Friedrich Czapek

Biochemie der Pflanzen

Dritte Auflage

Zweiter Band



Jena, Verlag von Gustav Fischer

ROBERT L. WEINTRAUB



BIOCHEMIE DER PFLANZEN

VON

DR. PHIL. ET MED. FRIEDRICH CZAPEK
WEIL O. Ö. PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT LEIPZIG

DRITTE, UNVERÄNDERTE AUFLAGE

ZWEITER BAND



JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1925

Vorwort.

Nach einer langen Zwischenzeit kann nunmehr der zweite Band dieses Werkes dem im Sommer 1913 erschienenen ersten Bande der zweiten Auflage. folgen.

Das Manuskript lag im Jahre 1914 fast druckfertig vor, als die Kriegsereignisse meiner wissenschaftlichen Tätigkeit ein jähes Ende bereiteten. Die Verlagsbuchhandlung kam trotz der schwierigen äußeren Lage im Winter 1918/19 meinen Wünschen, den Druck des Werkes baldigst in Angriff zu nehmen, in nicht hoch genug einzuschätzender Opfer- und Arbeitswilligkeit entgegen, so daß ich nunmehr den zweiten Band der Öffentlichkeit übergeben kann.

Auch während der fünf Kriegsjahre, ist in allen Ländern eine ansehnliche wissenschaftliche Tätigkeit entfaltet worden, deren Ergebnisse berücksichtigt werden mußten. Es blieb mir daher kein anderer Weg, als das Manuskript nochmals einer Umarbeitung zu unterziehen, die fast einer Neugestaltung gleichkam. Es konnte dies in der zur Verfügung stehenden Zeit nicht so durchgeführt werden, wie ich es gewünscht hätte. Auf welche Schwierigkeiten die Literaturbeschaffung stieß, brauche ich nicht erst auszuführen. Viele Nachuntersuchungen mußten wegen der äußeren Hinderungen unterbleiben. Auch war mein Gesundheitszustand nicht der beste.

Eine ernste Folge der langen Verzögerung des Erscheinens der Fortsetzung des Werkes war die enorme Vergrößerung des zu verarbeitenden Materials. Es ist zu wünschen, daß die Liberalität, mit welcher der Herr Verleger das umfangreiche Werk trotz der Zeitschwierigkeiten ausgestattet hat, durch die allgemeine Anerkennung seiner Verdienste den entsprechenden Lohn finden möge.

Der vorliegende zweite Band umfaßt den Schluß des assimilatorischen Stoffwechsels: Eiweiß- und Mineralstoffwechsel. Der dritte Band, dessen Druck in vollem Gange ist, wird die Darstellung des dissimilatorischen Stoffwechsels bringen, welcher die Atmungsvorgänge sowie die Erzeugung der stickstoffhaltigen und stickstofffreien Ausscheidungsprodukte umfaßt. Die Sachregister sowie Nachträge zum ersten Bande folgen mit dem Schlußband, so daß die Literatur bis in das Jahr 1920 berücksichtigt sein wird, soweit sie dem Verfasser zugänglich war.

Die Unvollkommenheiten meiner langjährigen und mühevollen Arbeit darf ich damit entschuldigen, daß es für den Einzelnen fast ausgeschlossen ist, das hier gesteckte Ziel in befriedigender Weise zu erreichen. Gegenüber modernen Handbüchern, an deren Abfassung sich eine Anzahl von Spezialforschern beteiligt, wird allerdings die größere Einheitlichkeit der Darstellung einen gewissen Vorteil bieten.

Möge das Werk weiter dazu dienen, der Pflanzenbiochemie in ihrer Entwicklung behilflich zu sein. Kein anderer Zweig der Botanik ist mehr als sie geeignet, den Zusammenhang mit den Hauptproblemen der

Gesamtnaturwissenschaft zu pflegen. Die Ernährung der Pflanze ist ja einer der gewaltigsten Angelpunkte, dessen Bedeutung in theoretischer und praktischer Hinsicht kaum je überschätzt werden kann.

Meinen herzlichen Dank für geleistete Hilfe möchte ich hier Fräulein Erna Liebaldt, welche mich vor dem Kriege bei der Redigierung des Manuskriptes unterstützte, ausdrücken, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Karl Boresch, welcher sich unermüdlich an den Korrekturarbeiten beteiligt hat.

Meinem hochverehrten Verleger, Herrn Dr. Gustav Fischer in Jena, gebührt meine höchste öffentliche Anerkennung und mein aufrichtiger Dank für die Tatkraft und die Opferfreudigkeit, mit welcher er das Erscheinen dieses Bandes unter den allerschwierigsten Zeitverhältnissen gesichert hat, und ich will hoffen, daß das Unternehmen in kurzer Zeit glücklich zu Ende geführt sein wird.

Prag, im Juli 1920

F. Czapek.

Inhaltsverzeichnis.

Spezielle Biochemie.

(Fortsetzung des assimilatorischen Stoffwechsels.)

III. Teil: Die Proteide im pflanzlichen Stoffwechsel.

Abschnitt 1: Allgemeine Biochemie der pflanzlichen Eiweißstoffe.

Zweiunddreißigstes Kapitel: Die physikalischen und chemischen Eigenschaften pflanzlicher Proteinstoffe.

Abschnitt 2: **Die Proteide im Stoffwechsel der niederen Pflanzen.**

Dreiunddreißigstes Kapitel: **Die Proteide der Bacterien und Pilze.**

Vierunddreißigstes Kapitel: **Die Resorption von Eiweißstoffen durch Bacterien und Pilze.**

Fünfunddreißigstes Kapitel: **Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung bei Bacterien und Pilzen.**

Seite

Fünfundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel der Laubblätter.**

Sechsundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel im Fortpflanzungssystem.**

Siebenundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel der Wurzeln.**

Spezielle Biochemie.

III. Teil: Die Proteide im pflanzlichen Stoffwechsel.

Abschnitt 1: Allgemeine Biochemie der pflanzlichen Eiweißstoffe.

Zweiunddreißigstes Kapitel: Die physikalischen und chemischen Eigenschaften pflanzlicher Proteinstoffe.

§ 1.

Einleitung, Vorkommen pflanzlicher Eiweißstoffe.

Die großen Fortschritte, welche die biochemischen Kenntnisse von den Eiweißsubstanzen (1) in der neueren Phase der Entwicklung der biologischen Wissenschaften erfahren haben, sind von den Erforschern der tierischen Proteinstoffe angebahnt worden. Die Kenntnisse von den pflanzlichen Proteinen, die nunmehr gleichfalls eine bedeutende Entwicklung genommen haben, schließen sich noch immer so eng an die tierbiochemischen Methoden und Resultate an, daß es besser ist, in unserer Darstellung die Zoochemie als Leitfaden zu nehmen, und an den geeigneten Stellen die pflanzenbiochemischen Tatsachen einzufügen. Dieses Verfahren wird um so eher gestattet sein, als man immer mehr zu der Überzeugung gelangt ist, daß pflanzliches und tierisches Protoplasma sehr analoge Eiweißstoffe enthält, und viele Erfahrungen auf tierchemischem Gebiete mit geringen Änderungen auch für die Pflanzenproteine Geltung haben.

Eine Umgrenzung des Begriffes „Eiweißkörper" zu geben, ist sehr schwierig; eine Definition desselben wohl ganz unmöglich, trotz der vielen für außerordentlich zahlreiche Eiweißsubstanzen charakteristischen Merkmale. Es scheint hier ähnlich zu gehen, wie mit der Abgrenzung des Kohlenhydratbegriffes. Die Zuckerarten stehen in ähnlichem Verhältnis zu den

1) Zur Orientierung auf dem ungeheuer angewachsenen Gebiete der Eiweißliteratur dienen O. COHNHEIM, Chemie d. Eiweißkörper, 3. Aufl., Braunschweig 1911; G. MANN, Chemistry of the Proteids, London 1906; R. H. A. PLIMMER, The Chemical Constitution of the Proteins, 2 Parts, 2. Edit., 1912 (London). Die pflanzlichen Proteine behandelt THO. B. OSBORNE, The Vegetable Proteins, London 1909. Vgl. ferner die Artikel von OSBORNE, SAMUELY u. a. in ABDERHALDENS Biochem. Handlexikon, Bd. IV, Berlin 1911. Allgemeine Gesichtspunkte bei E. FISCHER, Sitz.ber. Berliner Akad., 24. Januar 1907. Namhafte ältere Zusammenstellungen in den Lehrbüchern von NEUMEISTER, HAMMARSTEN und HOPPE-SEYLER, ferner bei DRECHSEL (Handwörterbuch d. Chemie, Bd. III (1885), F. SCHWARZ, Cohns Beitr. z. Biolog. d. Pfl., Bd. 5 (1887), J. MOLESCHOTT, Physiologie des Stoffwechsels, Erlangen 1851, p. 74.

Polysacchariden, wie die Polypeptide und Peptone zu den echten Proteinen, und vielleicht darf man den Vergleich auch auf die komplexen Eiweißstoffe, wie Nucleoproteide usw., ausdehnen, wenngleich die letzteren relativ noch verwickeltere Verhältnisse bieten, als die aus Hexosen kondensierten Polysaccharide. Die Polypeptide unter den Eiweißbegriff zu subsummieren (**1**), erscheint unnatürlich, während es praktisch ist, die Peptone einerseits, und die komplexen Proteide andererseits unter den Eiweißkörpern im weitesten Sinne des Wortes zu belassen. Wir nehmen den Eiweißbegriff streng nach chemischen Merkmalen und treten PFLÜGER (**2**) nicht bei, der unter Eiweiß nur die der lebenden Zelle eigenen Proteine verstehen will, und alle künstlich daraus isolierten Stoffe, wie Protamine und Histone, bereits als Eiweißderivate ansehen will.

Historisches. Der älteste bekannte pflanzliche Eiweißkörper ist der Kleber des Getreidemehles, mit dem sich BECCARI bereits im 18. Jahrhundert befaßte. ROUELLE zeigte, daß sich andere gerinnbare Stoffe im Preßsafte vieler Pflanzen nachweisen lassen. FOURCROY (**3**) lenkte zuerst die Aufmerksamkeit auf die Ähnlichkeit dieser Stoffe mit tierischem Eiweiß. Auch VAUQUELIN (**4**) betonte die Analogie des im Safte von Carica Papaya enthaltenen gerinnbaren Stoffes mit dem animalischen Bluteiweiß. Die späteren Arbeiten von THÉNARD (**5**) über Eiweißgerinnung, und von BOSTOCK (**6**) über eiweißfällende Substanzen wie Tannin und Schwermetallsalze, beziehen sich nur auf tierische Eiweißsubstanzen, desgleichen die ersten Elementaranalysen von Eiweiß durch PROUT (**7**). BRACONNOT (**8**) hat das Verdienst, die ersten Eiweißhydrolysen an Leim und Muskel mit verdünnter Schwefelsäure ausgeführt zu haben (1822), und er entdeckte hierbei das Glykokoll und das Leucin. Den Eiweißstoff aus Bohnen- und aus Erbsensamen untersuchte BRACONNOT (**9**) 1827 und nannte ihn Legumin. Von Wichtigkeit sind die gleichzeitig durch BERZELIUS (**10**) und EINHOF (**11**) angestellten Untersuchungen über Kleber („Pflanzenleim") und „Pflanzenkäsestoff", in welchen die biologische Übereinstimmung der tierischen und pflanzlichen Eiweißstoffe eindringlich vor Augen geführt wurde. RASPAIL **12**) entdeckte 1829 die bekannte Farbenreaktion von Eiweiß mit Zucker und konzentrierter Schwefelsäure. GMELIN (**13**) stellte Beobachtungen über das Verhalten von Eiweiß beim Erhitzen unter Druck an; BIRD (**14**) gewann

---

1) Vgl. TH. PANZER, Wien. klin. Wochschr., *16*, 689 (1903). — **2**) E. PFLÜGER, Pflüg. Arch., *129*, 99 (1909). — **3**) FOURCROY, Ann. de Chim., *3*; *8*, 113; *9*, 7 (1791). Vgl. auch SENEBIER, Physiologie, *2*, 441 (1800). — **4**) VAUQUELIN, Ann. de Chim., *43*; Crells Ann. (1802), II, 370. FOURCROY und VAUQUELIN, Ann. de Chim., *23*, 186 (1797) studierten die Wirkung konzentrierter Schwefelsäure auf tierische Stoffe. Über koagulierbare Substanzen im Safte der Bäume: VAUQUELIN, Ann. de Chim., *31*, 20 (1799). BERTHOLLETS „Zoonsäure", Ann. de Chim., *26*, 86 (1798), wurde durch THÉNARD, Ebenda, *43*, 176 (1802) als Gemenge erkannt. FOURCROY und VAUQUELIN nannten das Einwirkungsprodukt von Salpetersäure auf Eiweiß „acide jaune." — **5**) THÉNARD, Ann. de Chim., *67*, 320 (1808). — **6**) JOHN BOSTOCK, Ebenda, p. 35; Chevreul, Ann. Chim. et Phys. (2), *19*, 38 (1821) studierte die Wasseraufnahme von Eiweiß, sowie die Wirkung von Wärme und Alkohol auf Eiweiß. — **7**) W. PROUT, Schweigg. Journ., *28*, 181 (1820) fand für Bluteiweiß 7,77% H, 56,25% C, 30% O und 17,5% N. — **8**) H. BRACONNOT, Gilberts Ann., *70*, 389 (1822). — **9**) BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *34*, 68 (1827). Das von GORHAM, Schweigg. Journ., *32*, 488 (1821) und BIZIO, Ebenda, *37*, 377 (1823) aus Mais beschriebene „Zein" war wohl ein Gemisch von Kleber und anderen Proteinen mit Fett. — **10**) BERZELIUS, Ann. Chim. et Phys. (2), *37*, 215 (1828). Lehrb. d. Chem, Bd. 3, p. 384ff. (1828). Deutsch von WÖHLER. — **11**) EINHOF, Berzelius Jahresber., *7*, 231 (1828). — **12**) RASPAIL, Schweigg. Journ., *56*, 95 (1829). — **13**) L. GMELIN, Ebenda, *58*, 375 (1830). — **14**) G. BIRD, Journ. prakt. Chem., *9*, 32 (1836).

das Natronalbuminat; MITSCHERLICH (1) sah 1837 die violette Eiweißreaktion mit Kupfervitriol in alkalischer Lösung. GAYLUSSAC (2), THÉNARD, später DUMAS und CAHOURS (3) unterwarfen mehrere pflanzliche Eiweißstoffe der Elementaranalyse. Der erstgenannte Forscher wies nochmals auf die allgemeine Verbreitung reichlicher Eiweißmengen in Samen hin.

MULDER (4) erwarb sich große Verdienste um die Eiweißchemie durch die Anstellung reichlicher Analysen, wobei er bemüht war, die Verbreitung des Gehaltes an Schwefel und Phosphor zu zeigen. Er wies auch darauf hin, daß das Molekulargewicht der Eiweißstoffe ein außerordentlich hohes sein müsse. Seine Anschauungen über den Bau des Eiweißmolekels waren jedoch wenig glücklich. MULDER nahm an, daß bei allen Eiweißkörpern ein Kern $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$ („Protein") vorhanden seien, dessen verschiedene Schwefelungs- und Phosphorierungsstufen die natürlichen Eiweißkörper darstellen; auch sollten „Proteinoxyde" im Tierkörper vorkommen. LIEBIG (5) und einige seiner Schüler haben in mustergültigen Untersuchungen seit 1840 die Grundlage der heutigen Eiweißchemie geliefert, und manche Anschauungen, welche, wie die Verwandtschaft des Legumins mit dem Milchcasein, später zur Seite gedrängt wurden, sind in neuerer Zeit wieder zu Ehren gekommen. LIEBIG unterschied Pflanzeneiweiß (koagulierbar, durch Säuren nicht fällbar) Pflanzenkäsestoff (nicht koagulierbar, durch Säure fällbar) und Pflanzenfaserstoff. Er und LASKOWSKI (6) wiesen den Schwefelgehalt der MULDERschen „Protein"präparate nach; LIEBERKÜHN (7) zeigte, daß Phosphor kein allgemeiner Eiweißbestandteil sei, wie MULDER angenommen hatte. In LIEBIGS Laboratorium entwickelte sich auch die Anschauung, daß Elementaranalysen von Eiweißstoffen nicht hinreichenden Aufschluß über die Natur dieser Substanzen geben, und daß man durch hydrolytische Spaltung und die Sicherstellung der Abbauprodukte viel weiter kommt (8). HINTERBERGER (9) wies bei der Schwefelsäurehydrolyse von Ochsenhorn Leucin und Tyrosin nach. Auf dieser Bahn schritt die spätere Arbeit rüstig fort, und für die pflanzlichen Eiweißstoffe zeigten die Untersuchungen von RITTHAUSEN (10) auf das glänzendste, welche gewaltigen Fortschritte hierdurch angebahnt worden waren. An den Namen SCHÜTZENBERGERS knüpfen sich weitere Erfolge auf dem Gebiete der Eiweißhydrolyse, und gerade die letzte Phase in der Entwicklung der Eiweißchemie hat gezeigt, welche außerordentlichen Erfolge noch fortdauernd durch Verbesserung der Methodik hier zu erwarten sind. KÜHNE, und für pflanzliche Proteine dessen Schüler CHITTENDEN, die wichtigen zahlreichen Arbeiten von F. HOFMEISTER und dessen Schülern, sodann die ausgedehnten Untersuchungen über die pflanzlichen Proteine von OSBORNE und dessen Mitarbeitern; endlich die ungemein wichtigen Untersuchungen von E. FISCHER über die Eiweißhydrolyse und deren Produkte, an welche sich die erfolgreichen Arbeiten der Schule von

---

1) C. G. MITSCHERLICH, Pogg. Ann., *40*, 106 (1837). — 2) GAY-LUSSAC, Ann. Chim. et Phys. (2), *53*, 110 (1833). — 3) DUMAS u. CAHOURS, Ebenda (3), *6*, 385 (1842). Auch BOUCHARDAT, Lieb. Ann., *43*, 120 (1842). ROCHLEDER, Ebenda, *46*, 155 (1843) analysierte Legumin. — 4) MULDER, Pogg. Ann., *40*, 253 (1837); *44*, 443 (1838). Journ. prakt. Chem., *16*, 129 u. 297 (1839). Berzelius Jahresber., *19*, 642 (1840). Journ. prakt. Chem., *31*, 281 (1844). Versuch einer physiol. Chem. (1844), p. 300; Journ. prakt. Chem., *44*, 503 (1848). — 5) J. v. LIEBIG, Lieb. Ann., *39*, 128 (1841). Ann. Chim. et Phys. (3), *4*, 186 (1842). Lieb. Ann., *57*, 131 (1846). — 6) N. LASKOWSKI, Lieb. Ann., *58*, 129 (1846). — 7) N. LIEBERKÜHN, Pogg. Ann., *86*, 117 (1852). — 8) Vgl. die Arbeit von GUCKELBERGER, Lieb. Ann., *64*, 39 (1848), deren Resultate allerdings noch nicht klar waren. — 9) F. HINTERBERGER, Lieb. Ann., *71*, 70 (1849). — 10) H. RITTHAUSEN, Die Eiweißkörper d. Getreidearten usw. (1872).

ABDERHALDEN anschlossen, die grundlegenden Forschungen von KOSSEL und dessen Schülern über die basischen Eiweißstoffe und die Nucleoproteide, nicht zuletzt aber die Erforschung der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Proteine, an der sich zahlreiche Forscher, wie HARDY, WO. PAULI, T. BR. ROBERTSON, WO. OSTWALD und andere mit großem Erfolg beteiligten, alle diese Forschungen haben unsere Kenntnisse auf dem umfangreichen Arbeitsgebiete der Eiweißchemie in hervorragender Weise gefördert.

Angaben über Vorkommen. Hier sollen nur einzelne wichtige Befunde näher besprochen werden. Wie im Tierkörper, so liegen auch in der Pflanze die meisten Eiweißsubstanzen in kolloidalen Lösungen verschiedenen Dispersionsgrades, oder als feste Kolloide, Gele, in verschiedenen Quellungszuständen vor. Die Lokalisation der meisten Proteine, darunter gerade der wichtigsten in den Zellen der Blätter und Wurzeln, im Zellsafte und Cytoplasma ist leider noch so gut wie unbekannt, und die Natur der komplexen Plasmaproteine ist in keiner Richtung aufgehellt.

Jene Proteinstoffe, welche notorisch (1) zu den Reservesubstanzen der Zelle gehören, sind relativ am besten bekannt. Das pflanzliche Reserveeiweiß hat manche Analogien mit den tierischen Dotterproteinen. Diese Stoffe krystallisieren leicht, oft in der Zelle selbst, und waren die ersten krystallisierten Eiweißsubstanzen, die man überhaupt kennen gelernt hat. Über Eiweißkrystalle in Pflanzenzellen existiert eine große Literatur. TH. HARTIG (2) war 1855 der Entdecker derselben. RADLKOFER (3) verglich diese Gebilde mit richtigem Blicke mit den krystallisierten Dotterplättchen mancher Tiere. NÄGELI (4) wollte die Phytovitellinkrystalle wegen ihrer Quellungsfähigkeit und der unvollkommenen Konstanz der Winkel als „Krystalloide“ von den echten Krystallen unterschieden wissen. doch wies schon W. HOFMEISTER (5) darauf hin, daß sich diese Ansicht nicht aufrecht erhalten läßt. Manche Formen, wie die von COHN (6) erkannten Krystalle in den äußersten Parenchymlagen der Kartoffelknolle und die in den Proteinkörnern von Ricinus sind reguläre Krystalle, andere, wie die der Proteinkörner im Samennährgewebe von Bertholletia, Myristica, Musa, sind hexagonal-rhomboedrisch nach SCHIMPER (7) und ZIMMERMANN (8). Auf die zahlreichen Fälle, wo Eiweißkrystalle in verschiedenen Organen von höheren Pflanzen (9),

---

1) A. MEYER, Ber. bot. Ges., *33*, 373 (1915); *35*, 658 (1917), faßt auch die Organeiweißstoffe des Zellplasmas als „ergastische Stoffe“ auf. — 2) TH. HARTIG, Botan. Ztg. (1855), p. 881. — 3) L. RADLKOFER, Über Krystalle proteinartiger Körper (1859). — 4) NÄGELI, Mitteil. bayr. Akad. München, *2*, 220 (1862); SCHIMPER, Dissert. Straßburg 1878; Über Quellung und Gestaltänderung dieser Krystalle; DUFOUR, Dissert. Lausanne (1882). — 5) W. HOFMEISTER, Die Pflanzenzelle (1867), p. 395, Anm. 1. — 6) F. COHN, Jahresber. Schles. Ges. f. vaterländ. Kultur (1859), p. 72. Zuerst gesehen wurden sie von BAILEY 1845. — 7) A. F. W. SCHIMPER, Ztsch. Mineral. u. Krystall., *5*, 131 (1881). — 8) A. ZIMMERMANN, Schenks Handb. d. Botan., *3*, II, 575 (1887). — 9) Zusammenfassung b. TSCHIRCH, Angew. Pflanz.anat. (1889), p. 48; O. TUNMANN, Pflanzenmikrochemie, Berlin 1913, p. 477; H. MOLISCH, Mikrochemie d. Pfl., Jena 1913, p. 327. Krystalle in rindenständ. Schleimschläuchen bei Abies: HÖHNEL, Sitz.ber. Wien. Ak., *84*, I, 589 (1881). In jungen Kartoffeltrieben: SORAUER, Ann. d. Landwirtsch., *51*, 11. In wurzelfaulen Kartoffelpflanzen: HEINRICHER, Ber. botan. Ges., *9*, 287 (1891). Im Parenchym v. Euphorbia splendens: FRY, Ann. of Bot., *5*, 413 (1891). An Fruchtknotenplacenten in Haarzellen: HUIE, La Cellule, *11*, 83 (1895). In Blütenteilen verschied. Leguminosen: BACCARINI, Bot. Centralbl., *65*, 391 (1896). In Phytolacea: KRUCH, Acc. Linc. Roma (5), *5*, 364 (1896). Capsicumfrucht: A. NESTLER, Sitz.ber. Wien. Ak., *115*, 447 (1908). Bei Farnen: GR. KRAUS, Jahrb. wiss. Botan., *8*, 426. POIRAULT, Ann. Sci. Nat. (7), *18*, 113 (1893). Cycadeen: WARMING, Bot. Ztg. (1878), p. 737. Alectorolophus: A. SPERLICH, Beiheft bot. Zentralbl., *21*, I, 1 (1906); Nat. Rdsch. (1905), p. 618.

Algen (1) und Pilzen (2) beschrieben wurden, kann hier nicht näher eingegangen werden. Erwähnt sei das bemerkenswerte und häufige Vorkommen von Eiweißkrystallen in Zellkernen (3), wo sie gleichfalls Reservematerialien darstellen, ferner sei auf Beobachtungen über Phytovitellinkrystalle in Chlorophyllkörnern und Leucoplasten (4) hingewiesen. Den Einfluß reichlicher Stickstoffzufuhr auf eine reichliche Ablagerung solcher Krystalle von Eiweiß hat STOCK (5) festgestellt.

Nicht bekannt ist es, in welchem Verhältnis die manchmal in Menge vorkommenden spindelförmigen oder anders geformten aber nicht krystallisierten, augenscheinlich aus Eiweiß bestehenden Zellinhaltskörper (6) zu den Eiweißkrystallen stehen. Nach den vorliegenden Untersuchungen scheint es, als ob auch diese Zellkontenta Reservematerialien darstellen würden.

Die Eiweißkrystalle lassen sich aus ihrer Lösung in Mineralsalzlösung wieder krystallisiert zurückgewinnen, wie zuerst MASCHKE (7) gezeigt hat, und spätere nach besseren Methoden angestellte Versuche von SCHMIEDEBERG, DRECHSEL und GRÜBLER (8) ergeben haben.

Es ist möglich, daß im Organismus Eiweißstoffe mit nichteiweißartigen Substanzen chemisch gebunden vorkommen. So hat man behauptet, daß Lecithin-Eiweißverbindungen, die „Lecithalbumine" von LIEBERMANN (9), in der Zelle existieren; dieselben sollen Stoffe von stark saurem Charakter sein. NERKING (10) hat Fett-Eiweißverbindungen angenommen, was von POSNER und GIES (11) wieder in Abrede gestellt worden ist. Jedenfalls ist es schwierig, Adsorptionsverbindungen und chemische Verbindungen bei Eiweißkörpern zu unterscheiden.

Es ist sicher zuzugeben, daß man bei der Darstellung der Zellproteide meist nicht die unzersetzten nativen Stoffe erhält, und wir sind gewiß noch weit davon entfernt, die Eigenschaften des Zelleiweiß zutreffend beurteilen zu können. Doch wird man trotzdem die von manchen Forschern

---

Färbung: A. ZIMMERMANN, Ber. botan. Ges., *8*, p. (47) (1890); Ztsch. wiss. Mikr., *10*, 211 (1893). Convolvulus: BORZI, Just (1894), I, 433. In Haaren: KALLEN, Flora (1882), p. 65. SCHENCK, Dissert. Über centrifugale Wandverdick.gen, Bonn (1884). Verhalten b. Karyokinese. ZIMMERMANN, Beitr. Morph. u. Physiol. d. Pfl.zelle, Heft 2 (1891). Zusammenfassung H. MOLISCH, Mikrochemie (1913), p. 327.

1) Bei Florideen. Acetabularia, Codium: J. KLEIN, Flora (1877), p. 289. JUST, Jahresber. (1879), I, 11; Flora (1880), Nr. 5. WAKKER, Just Jahresber. (1886), I, 25. BERTHOLD, Protoplasmamechanik (1886), p. 57. LEITGEB, Sitz.ber. Wien. Ak., *96*, 13 (1887). WAKKER, Jahrb. wiss. Botan., *19*, 423 (1888). BRUNS, Ber. bot. Ges., *12*, 178 (1894). — 2) Sporangienstiele von Mucorineen: J. KLEIN, Jahrb. wiss. Botan., *8*, 305. TIEGHEM, Ann. Sci. Nat. (6), *5*, 32. Basidiomyceten: CH. VAN BAMBEKE, Bull. Ac. Roy. Belg. (1902), Nr. 4, p. 227. — 3) Sehr leicht zu sehen in der Perigonepidermis von Albucaarten: RACIBORSKI, Flora (1897), p. 75. Zuerst wurden Zellkernkrystalle von RADLKOFER bei Lathraea nachgewiesen, bei Pinguicula und Utricularia durch J. KLEIN, Cohns Beitr. z. Biol., *3*, 163 (1880); RUSSOW, Dorpater Nat.forsch. Ges. (1880); PUJIULA, Bol. Espan. Biol., *6*, 107 (1916). Im Torus von Pirola: RAUNKJÄR, Just Jahresber. (1882), I, 409; (1883), I, 160. Stylidium: RAUNKJÄR, Bot. Centralbl., *30*, 236 (1887). Hyacinthus: LEITGEB, Mitteil. bot. Inst. Graz, p. 115. — 4) SCHIMPER, Botan. Ztg. (1883), p. 809; Jahrb. wiss. Botan., *16*, 1; ZIMMERMANN, l. c. (1891). H. MOLISCH, l. c. 339. — 5) G. STOCK, Cohns Beitr. z. Biol., *6*, 213 (1892). — 6) Vgl. H. MOLISCH, l. c., p. 327. J. GICKLHORN, Österr. bot. Ztsch., *63*, 8 (1913). Auch J. POLITIS, Atti Acc. Linc., *20*, 343 (1911). — 7) O. MASCHKE, Journ. prakt. Chem., *74*, 436 (1858); Bot. Ztg. (1859), p. 441. R. SACHSSE, Sitz. Nat.forsch. Ges., Leipzig, *3*, 23 (1876). — 8) O. SCHMIEDEBERG, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 205 (1877). E. DRECHSEL, Journ. prakt. Chem., *19*, 331 (1879). G. GRÜBLER, Ebenda, *23*, 97 (1881). RITTHAUSEN, Ebenda, p. 481. — 9) L. LIEBERMANN, Pflüg. Arch., *54*, 573 (1893). — 10) J. NERKING, Ebenda, *85*, 330 (1901). — 11) R. POSNER u. GIES, Amer. Journ. of Physiol., *7*, 331 (1902).

geäußerten Ideen über „lebendes Eiweiß", die weit über das Gebiet der exakten Experimentalwissenschaft hinausgehen (1), auch heute schon entschieden ablehnen dürfen.

§ 2.

Die physikalischen Eigenschaften der Eiweißstoffe.

Krystallisation. Bis in die neuere Zeit waren nebst den tierischen Dotterplättchen und dem Hämoglobin die Phytovitelline die einzigen bekannten krystallisierten Eiweißstoffe, und erst 1889 gelang es HOFMEISTER (2) zu beweisen, daß man das Ovalbumin aus Hühnerei durch langsame Konzentrierung der in halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung gelösten Substanz schließlich in schön krystallisierter Abscheidung gewinnen kann. Oft kommt man schneller und sicherer zum Ziele, wenn man nach dem Vorgange von HOPKINS und PINKUS (3) die Ammoniumsulfatfällung durch einen geringen Zusatz von Essigsäure einleitet. Auf die Gewinnung krystallisierter pflanzlicher Eiweißsubstanzen, die nicht schon in natürlichen Krystallen bekannt sind, hat dieses Verfahren noch nicht Anwendung gefunden (4). Das Ovalbumin ist nach WICHMANN (5) isomorph mit dem Serumalbumin des Blutes und dem Lactalbumin aus Milch, die nach demselben Verfahren krystallisiert darzustellen waren. Durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat ist es MOLISCH (6) gelungen, die Chromatophorenfarbstoffe der Florideen und Blaualgen, die Phycoerythrine und Phycocyanine, in Krystallen zur Abscheidung zu bringen. Sie krystallisieren interessanterweise ebenso leicht, wie der Blutfarbstoff der Tiere, das Hämoglobin, mit dem sie vielleicht auch chemisch näher verwandt sein mögen, als wir heute sagen können. Unsicher sind manche Angaben über krystallisierende Peptone und Proteosen.

Die Methodik der Herstellung künstlicher Eiweißkrystalle hat FR. N. SCHULZ (7) kritisch zusammenfassend behandelt. Man hat mit Recht oft darauf hingewiesen, daß dieselbe bei der Beschaffung einheitlichen reinen Untersuchungsmaterials, vorausgesetzt, daß man oftmals umkrystallisiert, große Bedeutung besitzt. Doch darf man nicht vergessen, daß die Adsorptions- und Quellungsvorgänge bei den Eiweißkrystallen sehr in Betracht kommen, wie GÜRBER (8) meint, auch chemische Verbindungen mit der Säure des verwendeten Salzes, so daß krystallisiertes Eiweiß nicht dieselbe Gewähr für absolute Reinheit bietet, wie anderes umkrystallisiertes Material.

---

1) Z. B. O. LOEW, Science, *11*, 930 (1900). — 2) FR. HOFMEISTER, Ztsch. physiol. Chem., *14*, 163 (1889); *16*, 187 (1891); GABRIEL, Ebenda, *15*, 456 (1891). BONDZYNSKI u. ZOJA, *19*, 1 (1894). MORACZEWSKI, Ebenda, *21*, 71 (1895); *25*, 252 (1898). GÜRBER, Sitz.ber. Würzburg. phys. med. Ges. (1894), p. 142; (1896), p. 117. KRIEGER, Diss. Straßburg (1899). FR. N. SCHULZ, Ztschr. physiol. Chem., *29*, 86 (1899). PANORMOFF, Bull. Soc. Chim. (3), *18*, 595 (1897). WORMS, MAXIMOWITSCH, Chem. Zentr. (1901), II, 1229. REICHERT, Amer. Journ. of Physiol., *9*, 97 (1903). M. COHN, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 41 (1904). E. G. WILLCOCK, Journ. of Physiol., *37*, 27 (1908). C. JNAGAKI, Biochem. Zentr., 4, Ref. Nr. 1452. Die Physikochemie der künstlichen Eiweißkrystallisation behandelt ausführlich SÖRENSEN u. HÖYRUP, Ztsch. physiol. Chem. *103*, 15 (1918). C. r. CARLSBERG, *12*, 1 (1917). — 3) HOPKINS u. PINKUS, Journ. of Physiol. *23*, 130 (1898). — 4) Vgl. z. B. GABRIEL l. c., Das von RÜMPLER, Ber. chem. Ges., *35*, 4162 (1902) angegebene Verfahren dürfte hierbei gute Dienste leisten. — 5) WICHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *27*, 575 (1899). A. OSWALD, Ztsch. physiol. Chem., *95*, 102 (1915). — 6) H. MOLISCH, Botan. Ztg. (1894), p. 177; (1895), p. 131. — 7) FR. N. SCHULZ, Krystallisation von Eiweißstoffen (1901); ABDERHALDENS Handb. biochem. Arb.method., *2*, 335 (1909). — 8) A. GÜRBER, Zentr. Physiol., *19*, 314 (1905).

Auch die natürlichen Eiweißkrystalle bergen nach SCHIMPER (1) vielleicht eingeschlossene Beimengungen, indem bei Einwirkung von Glycerin ein Teil in Lösung geht, ein Teil jedoch als festes Skelett vom Lichtbrechungsvermögen des Wassers zurückbleibt.

Kolloidchemie der Eiweißkörper. Die bisher gesammelten Kenntnisse (2) betreffen so gut wie ausschließlich tierische Proteinstoffe, doch darf man weitaus das meiste mit großer Sicherheit auch auf die pflanzlichen Eiweißstoffe übertragen, so daß es im nachfolgenden nicht immer ausdrücklich betont ist, daß pflanzliche Proteine für die betreffenden Befunde noch näher zu prüfen wären. Man kennt Proteine in allen kolloiden Zustandsformen, als Gele, Emulsoide und Suspensoide, doch spielen im Eiweiß der lebenden Zelle die emulsoiden Eiweißsole weitaus die bedeutendste Rolle. Bei der großen Schwierigkeit wirklich reine Eiweißlösungen zu erhalten, darf es nicht wunder nehmen, daß man noch nicht weiß, welchen Anteil Eiweißsuspensoide an der Zusammensetzung nativer Proteinmischungen, oder selbst an dem kolloiden Charakter künstlich hergestellter Eiweißlösungen nehmen. Die ultramikroskopisch sichtbaren Partikel mögen meist nicht dem Hauptbestandteil der Lösung, ja selbst andersartigen Verunreinigungen angehört haben.

An künstlich hergestellten Suspensionsproteinen hat HEARD (3) die Fällbarkeit durch kleine Elektrolytmengen und BOTTAZZI (4) Oberflächenspannung und Viscosität geprüft. Man darf sagen, daß reine Eiweißsuspensoide, so wie alle anderen echten Suspensoide sich bezüglich Oberflächenspannung von Wasser nicht unterscheiden, somit daß alle oberflächenaktiven Eiweißlösungen emulsoidartiger Natur sind. RAMSDEN (5) stellte mittels Harnstoffzusatzes Proteinlösungen von stetig variierendem Dispersitätsgrad her. Ultrafiltrationsversuche hat BURIAN (6) angestellt.

Bei den Eiweißsolen tritt stets der ausgeprägt hydrophile Charakter hervor, die „Solvatbildung" (PAULI) mit dem wässerigen Lösungsmittel. Doch hängt der Grad der Hydrophilie sehr von der Natur der Proteine, von den gleichzeitig anwesenden Stoffen, von der Temperatur und anderen Einflüssen ab.

Dichte und Lösungsvolum einiger Proteinlösungen im Vergleiche zu den festen Proteinen untersuchten CHICK und MARTIN (7) mit dem Ergebnisse, daß sich aus der Lösung eine um 5—8% geringere Dichte berechnet, als aus dem festen Eiweiß, was auf eine entsprechende Volumkontraktion beim Auflösen hindeutet. Man darf dies der bekannten Verkleinerung des Gesamtvolums von quellbaren Stoffen und Lösungsmittel bei der Quellung zur Seite stellen. Schon bei der Untersuchung der Oberflächenspannungsverhältnisse von Eiweißlösungen, die in neuerer Zeit besonders durch BOTTAZZI (8) untersucht worden sind, macht sich der beirrende Einfluß von Verunreinigungen sehr geltend, und es spielen nicht nur kleine Mengen

1) SCHIMPER, NÄGELI, l. c.; PFEFFER, Jahrb. wiss. Bot., *8* (1872) dachte an eine chemische Spaltung durch Glycerin, die Frage ist aber noch unentschieden. — 2) Vgl. HANDOVSKY, Fortschritte i. d. Koll.chem. d. Eiweißstoffe, Dresden 1911; W. PAULI, Fortschritte d. naturwiss. Forsch., her.geg. von ABDERHALDEN, Bd. IV, p. 223 (1912); T. BR. ROBERTSON, Die physikal. Chemie d. Proteine, Dresden 1912. — 3) W. N. HEARD, Journ. of Physiol., *45*, 27 (1912). — 4) F. BOTTAZZI u. E. D'AGOSTINO, Acc. Linc. Rom. (5), *22*, II, 183 (1913). — 5) W. RAMSDEN u. N. CHAVASSE, Koll.Ztsch., *12*, 250 (1913). — 6) R. BURIAN, Archiv. di Fisiol., *7*, 421 (1910). — 7) H. CHICK u. CH. J. MARTIN, Koll.Ztsch., *12*, 69 (1913). Biochem. Journ., *7*, 92 (1913). — 8) F. BOTTAZZI, Atti Acc. Linc. Rom. (5), *21*, II, 221 (1912); BOTTAZZI u. D'AGOSTINO, Ebenda, p. 561; Arch. ital. Biol., *59*, 28 (1913).

oberflächenaktiver Stoffe wie sonst eine störende Rolle, sondern auch die Änderung des lyophilen Charakters der Proteine bei Gegenwart von Salzen, Säuren und Laugen. Eiweißlösungen zeigen sehr häufig eine geringere Oberflächenspannung als Wasser, doch geht die Erniedrigung der Oberflächenspannung nach eigenen Erfahrungen nie bis auf zwei Drittel des Wasserwertes herab, wie konzentrierte Neutralfettemulsionen sie bedingen. BERCZELLER (1) will aus den von ihm beobachteten stalagmometrischen Differenzen bei der Hitzekoagulation auf chemische (hydrolytische) Veränderungen bei diesem Vorgange schließen. Nach RONA und MICHAELIS (2) ändert sich auch bei enzymatischer Hydrolyse die Oberflächenspannung der Eiweißlösung.

Die Diffusion von Eiweißlösungen vollzieht sich im Vergleiche zu Elektrolyten sehr langsam. ROBERTSON (3) fand, daß anfangs die Geschwindigkeit allerdings relativ groß ist, sich jedoch allmählich in exponentieller Form verlangsamt. SUTHERLAND (4) berechnet aus der Diffusionsgeschwindigkeit von Eiweiß für Albumin das Molekulargewicht 32814. Der osmotische Druck einer Ovalbuminlösung von gegebener Zusammensetzung ist nach den genaueren Versuchen von SÖRENSEN (5) eine unveränderliche Größe. Aus den erhaltenen Werten wurde eine Molekulargröße von etwa 34000 berechnet; die durch anderweitige Methoden ermittelte Zahl von 380 N-Atomen pro Molekül wurde dabei mit berücksichtigt. VAN DER FEEN (6) fand für eine 1%ige Albuminlösung einen Druck von 9,28 cm Hg; das Molekulargewicht berechnet er zu 26200. Wenn ROBERTSON und BURNETT (7) aus der Gefrierpunktdepression von in Wasser gelöstem Caseinat das Molekulargewicht 1400 ableiten, so darf man wohl sicher sein, daß dieser Wert weitaus zu niedrig liegt.

Viele Widersprüche in den früheren Angaben über das elektrische Verhalten von Eiweißsolen, die Beeinflussung der Eiweißlösungen durch Salze usw., sind erst in befriedigender Weise geklärt worden, als man durch die Versuche PAULIS (8) die Eigenschaften möglichst elektrolytfrei gemachten Eiweißes kennen lernte. Wenn man auch durch Ausfrierenlassen (9) und andere Mittel elektrolytarme Lösungen von stark verminderter Leitfähigkeit erhält, so ist es erst durch wochenlange und monatelange aseptische Dialyse von Eiweißlösung gegen reinstes destilliertes Wasser möglich gewesen, den Einfluß der Anwesenheit von Elektrolyten hinreichend weit auszuschalten. Obwohl solche Eiweißlösungen beim Kochen oder durch Alkoholzusatz ausgezeichnet koagulieren, so sind doch eine Reihe von Eigenschaften verloren gegangen, die sonst typisch in allen Eiweißlösungen vorhanden sind. Das nach PAULI hergestellte elektrolytarme Serumalbumin zeigt praktisch keine Kataphorese im elektrischen Feld, und man kann annehmen, daß darin fast nur ungeladene oder elektrisch neutrale Teilchen vorhanden sind, indem

---

1) L. BERCZELLER, Biochem. Ztsch., *53*, 215, 232 (1913). — 2) P. RONA u. L. MICHAELIS, Ebenda, *41*, 165 (1912). — 3) T. B. ROBERTSON, Pflüg. Arch., *152*, 524 (1913). — 4) W. SUTHERLAND, Phil. Mag. (6), *9*, 781 (1905). — 5) Neuere Versuche über osmot. Druck von Eiweißlösung: H. E. ROAF, Quart. Journ. Exp. Physiol. (1910), III, 171; B. MOORE, ROAF u. A. WEBSTER, Biochem. Journ., *6*, 110 (1912); SÖRENSEN u. HÖYRUP, C. r. CARLSBERG,, *12*, 1 (1917); Ztsch. physiol. Chem., *106*, 1 (1919). — 6) F. VAN DER FEEN, Chem. Weekblad., *13*, 410 (1916). Für Gelatine: W. BILTZ, Ztsch. physik. Chem., *91*, 705 (1914). – 7) T. BR. ROBERTSON u. BURNETT, Journ. biol. Chem., *6*, 105 (1909). — 8) W. PAULI, Hofmeist. Beitr., *7*, 531 (1905); Naturwiss. Rdsch., *21*, 3 (1906); Pflüg. Arch., *136*, 483 (1910). Dialysierverfahren: E. ZUNZ, Abderhald. Handb. biochem. Arb.meth., *3*, 165 (1910). — 9) Vgl. CH. DHÉRÉ u. GORGOLEWSKI, Compt. rend., *150*, 934 u. 998 (1910), Journ. de Physiol., *13*, 157 u. 167 (1911).

sich das reine Eiweiß wie eine sehr schwache Aminosäure vermöge seines Gehaltes an freien COOH und NH_2-Gruppen verhält, die fast nur nicht dissoziierte Molekel, daneben sehr wenige H·-Ionen und noch weniger OH'-Ionen als amphoterer Elektrolyt liefert. Fügt man ein wenig Säure hinzu, so nimmt das Eiweiß positive Ladung an, liefert also, da es zur Kathode wandert, Kationen. Bei Gegenwart von Laugen wird das Eiweiß hingegen negativ geladen und erhält anodischen Wanderungssinn. Hinzufügen von Neutralsalz erteilt dem Eiweiß keine elektrische Ladung. Nur die nicht neutralen Salze wirken den Säuren und Basen entsprechend, je nach ihrer sauren oder basischen Natur. PAULI fand auch die wichtige Tatsache, daß elektrolytarmes Eiweiß durch Zink, Kupfer, Quecksilber, Eisen und Bleisalze gar nicht, durch Silber und Uransalze nur sehr schwach gefällt wird. Nur die konzentrierten Schwermetallsalzlösungen fällen auch hier. HEARD (1) schreibt den Bicarbonaten unter den wegdialysierten Salzen die Hauptwirkung beim Zustandekommen der Schwermetallfällungen zu.

Elektrolytarmes oder elektroneutrales Eiweiß wird nicht nur durch Alkohol, sondern auch durch die Eiweißreagentien Essigsäure-Ferrocyankali, Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure gefällt. Dies beruht auf der positiven Aufladung durch die zugesetzte Säure und die Ausfällung durch das aus der Säure entstehende kolloidale Anion. Umgekehrt können die Schwermetallsalze nicht fällen, weil nur ihr hydrolytisch abgespaltenes Hydroxyd mit positiver Aufladung der wirksame Stoff ist, und dieser nur auf entgegengesetzt geladene Kolloide fällend wirksam sein kann, nicht aber auf elektroneutrale Stoffe. Da nach den anderwärts mitgeteilten und begründeten Theorien von HARDY und BREDIG isoelektrischer Zustand und Minimum der berührenden Oberflächen zusammenfallen, so wird man erwarten dürfen, daß beim elektroneutralen Eiweiß sich die Abtrennung des Kolloids aus der Lösung leichter vollziehen wird, als bei elektrisch geladenem Eiweiß. In der Tat fällt Alkohol nach PAULI das durch Säure oder Laugezusatz geladene Eiweiß bedeutend weniger als das elektroneutrale. Es hat sich auch in den Untersuchungen von MICHAELIS (2) und von CHICK und MARTIN (3) herausgestellt, daß das Flockungsoptimum von Eiweiß wesentlich mit dem isoelektrischen Punkte zusammenfällt. Für Casein fanden MICHAELIS und PECHSTEIN den isoelektrischen Punkt durch die Überführungsmethode bei $2{,}5 \cdot 10^{-5}$, für das Flockungsoptimum $2{,}4 \cdot 10^{-5}$. Für Gliadin fanden MICHAELIS und RONA(4) $6 \cdot 10^{-10}$, für Edestin $1{,}3 \cdot 10^{-7}$. Die Abweichungen, welche SÖRENSEN und JÜRGENSEN (5) für die Lage von isoelektrischem Punkt und Flockungsoptimum durch Säure beim Serumalbumin fanden, sind wohl durch Säureverbrauch in chemischen Umsetzungen vor dem Ausfällen zu erklären. Nach PAULI und MATULA (6) fällt auch für die Alkoholfällung Fällungsoptimum und isoelektrischer Punkt zusammen. Da nun für Quellung, Hitzekoagulation und Alkoholfällung ein Maximum der Dehydratation im isoelektrischen Punkte zu erkennen war, so vermutete PAULI, daß auch viscosimetrisch der Punkt der Elektroneutralität ein besonderes Verhalten zeigen muß, und konnte in der Tat finden, daß Minimum der Viscosität und isoelektrischer Punkt zu-

---

1) W. N. HEARD, Journ. of Physiol., *46*, 104 (1913). — 2) L. MICHAELIS, Biochem. Ztsch., *47*, 250 u. 260 (1912). — 3) H. CHICK u. MARTIN, Biochem. Journ., *7*, 380 (1913). — 4) P. RONA u. MICHAELIS, Biochem. Ztsch., *28*, 193 (1910). — 5) S. P. SÖRENSEN u. E. JÜRGENSEN, Ebenda, *31*, 397 (1911). — 6) W. PAULI, Koll.Ztsch., *12*, 223 (1913).

sammenfallen. So ist es möglich, durch das Viscosimeter den elektrischen Zustand von Eiweißlösungen zu kontrollieren (1).

In salzhaltigen Flüssigkeiten hat das elektroneutrale Eiweiß andere Kolloideigenschaften als in reinem Wasser. Dabei sind konzentrierte Salzlösungen wieder von anderer Wirkung wie verdünnte. OSBORNE und HARRIS (2) zeigten, daß Edestin durch konzentrierte Salzlösung gelöst wird und aus dieser Lösung beim Verdünnen mit Wasser wieder ausfällt. Hingegen erhält man bei geringem Salzgehalt Edestinlösungen, welche beim Verdünnen mit Wasser keinen Niederschlag geben. PAULI (3), später LOEB (4) wurden darauf aufmerksam, daß verdünnte Salzlösungen die in reinem Wasser unlöslichen Globuline wohl nur vermöge ihrer Ionisierung zu lösen vermögen, da Nichtelektrolyte, wie Zucker die gleiche Wirkung der Lösung nicht besitzen. Es ist in der Tat wahrscheinlich, daß es sich um Ionenadsorption handelt, da PAULI (5) fand, daß die Hemmung der Hitzekoagulation durch Neutralsalze, die man als ein Maß der Bindung der Elektrolyte an das Eiweiß ansehen kann, sich durch graphische Darstellungen ausdrücken läßt, welche vollkommen den Exponentialkurven entsprechen, die man sonst bei Adsorptionsvorgängen gewinnt, und welche logarithmiert durch Gerade dargestellt werden können. Da in den Eiweißkörpern gleichzeitig nach dem Schema $NH_2 \cdot E \cdot COOH$ elektropositive und negative Gruppen zugegen sind, das Eiweiß also eine amphotere Substanz ist, so können gleichzeitig Anionen und Kationen der Salze adsorptiv gebunden werden. RÖBERTSON (6) nimmt an, daß die Ionen von Säuren und Basen durch die Kondensationsgruppe .COH · N: des Eiweiß gebunden werden, und die bei saurer Reaktion gebildeten Salzeiweißkomplexe hydrolytisch unter Bildung eines unlöslichen Komplexes dissociiert seien. Nach PAULI und BRÜLL wird durch geringe Salzmengen nicht allein der Hitzekoagulationspunkt von Eiweiß im elektroneutralen Zustand erhöht, sondern auch die Fällbarkeit durch Alkohol entsprechend herabgesetzt, während Nonelektrolyte wie Zucker hier gleichfalls unwirksam sind. Der Adsorptionskomplex Eiweiß—Salzionen ist also in jeder Hinsicht beständiger in seinen kolloiden Eigenschaften als das elektroneutrale Eiweiß (7). Solche Eiweiß-Ionenverbindungen müssen daher in der Zelle von fundamentaler Bedeutung sein.

Seit HEYNSIUS (8) und KÜHNE (9) im Ammoniumsulfat ein äußerst wirksames Fällungsmittel für Eiweiß entdeckten, spielen die Niederschläge von Eiweiß mit konzentrierteren Salzlösungen bei den „Aussalzungsmethoden" der Eiweißchemie eine wichtige Rolle, vor allem deshalb, weil man erkannte, daß es sich um vollkommen reversible Vorgänge handelt, und man durch Lösen des Niederschlages das ursprüngliche Eiweiß ohne Veränderung seiner Eigenschaften wieder erhalten kann. HOFMEISTER und

1) Viscosität von Eiweiß-Solen: H. CHICK u. E. LUBRZYNSKA, Biochem. Journ., *8*, 59 (1914); CHICK, Ebenda, p. 261; GAZZETTI, Arch. di Fisiol., *12*, 309 (1914). — 2) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Amer. Journ. of Physiol., *14*, 151 (1905). — 3) W. PAULI, Pflüg. Arch., *78*, 315 (1899). — 4) J. LOEB, Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906; vd. Salslös.gen u. Casein: S. RYD., Ztsch. Elektrochem., *23*, 19 (1917). — 5) WO. PAULI, Koll.Ztsch., *3*, 2 (1908). — 6) T. BR. ROBERTSON, Journ. biol. Chem., *9*, 303 (1911); Ergebn. d. Physiol., *10*, 216 (1910). — 7) Vgl. auch W. B. HARDY, Journ. of Physiol., *33*, 251 (1905). — 8) A. HEYNSIUS, Pflüg. Arch., *34*, 330 (1885). — 9) W. KÜHNE, Verhandl. nat.med. Vereins Heidelberg, *3*, 286 (1885). Für praktische Zwecke empfiehlt sich auch wasserfreies Na_2SO_4: PINKUS, Journ. of Physiol., *27*, 57 (1901).

LEWITH (1) verdankt man die wissenschaftlichen Grundlagen der „Neutralsalzwirkungen“ auf Eiweiß. Es wurde festgestellt, daß die Konzentration, bei welcher ein Salz einen Eiweißstoff zu fällen beginnt, ebenso charakteristisch für den Eiweißstoff ist, wie etwa der Löslichkeitsgrad für einen krystallisierten Körper. Bei zahlenmäßigen Angaben führt man die Zahl der Kubikzentimeter einer kaltgesättigten Lösung an, welche in 10 ccm Eiweiß, Salz und Wasser vorhanden sein muß, damit die Ausscheidung beginnt bzw. vollendet ist. OSBORNE und HARRIS (2) haben für eine größere Zahl von Reserveproteiden aus Samen in ähnlicher Weise die Fällungsgrenzen gegen Ammoniumsulfat ermittelt. Hier ist auch näher ausgeführt, wie man genaue Kautelen zur Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen zu nehmen hat. Die umfassenden Versuche HOFMEISTERS lehrten gleichzeitig, daß nicht alle Neutralsalze in gleicher Intensität fällend wirksam sind. Im allgemeinen waren allerdings die Salze einbasischer Säuren und einwertiger Basen sowohl auf Eiweiß als auf Eisenhydroxydkolloid und Ölseife in äquimolarer Lösung annähernd gleichgut wirksam. Die Wirkung der Salzionen erkannte HOFMEISTER bereits als additiv für die Wirkung der Salze. PAULI (3) hat hierauf diese Erfahrungen wesentlich erweitert und geordnet dargestellt. Die sich ergebenden Reihen von Anionen und Kationen sind nach der Wirkungsstärke von links nach rechts bzw. von oben nach unten geordnet folgende: (n.u. = nicht untersucht):

Kationen mit abnehmender Stärke fällend Anionen mit abnehmender Stärke fällend	Mg	NH_4	K	Na	Li
Fluoride	n.u.	+	+	+	n.u.
Sulfate	+	+	+	+	+
Phosphate	n.u.	+	+	+	n.u.
Citrate	n.u.	+	+	+	n.u.
Tartrate	n.u.	+	+	+	n.u.
Acetate	—	—	+	+	n.u.
Chloride	—	—	+	+	+
Nitrate	—	—	—	+	+
Chlorate	n.u.	—	—	+	n.u.
Bromide	—	—	—	—	+
Jodide	n.u.	—	—	—	n.u.
Rhodanide	—	—	—	—	n.u.

Die Anionen teilen sich nach diesem Verhalten in mehrere Gruppen von verschiedenen starkem Fällungsvermögen. Die Chloride, Bromide und Nitrate (der Alkalisalze) hemmen die Koagulation zwischen den Konzentrationen 2—5 · normal, Fluoride, Sulfate, Citrate und Acetate hemmen schon bei 1—3 · normal, hingegen ist bei Rhodaniden und Jodiden die Wirkung nur innerhalb der Konzentrationen 1 · n bis 2 · n den anderen Salzen

1) S. LEWITH, Arch. exp. Pathol., *24*, 1; FR. HOFMEISTER, Ebenda,, p. 247 (1888); *25*, 1 (1888). Fraktionierte Eiweißfällg.: EFFRONT, Monit. scient., *16*, 241 (1902). — 2) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 837 (1903); Amer. Journ. Physiol., *13*, 436 (1905). Für Casein: M. LIEBERT, Diss. Stuttgart 1912; Ovalbumin: G. GUERRINI, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 287 (1906). Globulinfällung: W. SUTHERLAND, Proc. Roy. Soc., *79*, B, 130 (1907); Technik des Aussalzens: H. C. HASLAM, Zentr. Physiol. (1905), p. 362. Über die Bedingungen der Löslichkeit von Globulin in $MgSO_4$ vgl. G. GALEOTTI, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 473 (1906); V. SCAFFIDI, Ebenda, *52*, 42 (1907). Ultramikroskop. Beobacht. üb. Salzwirkung: PH. RUSSO, Soc. Biol., *68*, 716 (1910). — 3) WO. PAULI, Hofmeist. Beitr., *3*, 225 (1903). TH. ORYNG u. PAULI, Biochem. Ztschr., *70*, 368 (1915). PAULI, Veröff. Zentr.Stelle Balneolog., *3*, 13 (1916).

vergleichbar, und oberhalb dieser Konzentrationen ist die Hemmung der Eiweißfällung so stark, daß eine Hitzekoagulation nicht mehr möglich ist. Wenn man die Kationen betrachtet, so bilden NH_4, Na, K und Mg eine Gruppe mit langsamem Anstieg der Koagulationshemmung oberhalb 1 · n, während Li, Ca, Sr, Ba eine weitere Gruppe bilden, die ein deutliches Maximum der Koagulationstemperatur bei 1 · n, bzw. 0,5 · n erzeugen, darüber hinaus aber eine Erniedrigung derselben mit steigendem Salzgehalte (PAULI). Daß es sich beim Rhodanid um eine Hemmung der Koagulation und nicht um irreversible Veränderungen des Eiweiß handelt, folgt nach PAULI daraus, daß eine mit Alkalirhodanid gekochte und dann ausdialysierte Eiweißlösung schließlich eine starke Ausflockung zeigte.

Analoge Ergebnisse erhielten VANDEVELDE und BOSMANS (1) für die Entwässerung von Gluten durch gesättigte Salzlösungen, wo Sulfate am stärksten wirken.

Daß bei der Neutralsalzfällung keinerlei Veränderungen des Eiweiß stattfinden, wird durch die Erfahrung HERLITZKAS (2) erhärtet, wonach diese Vorgänge von keiner meßbaren Wärmetönung begleitet sind. Der Vorgang besteht darin, daß sich eine eiweißreiche wasserarme Phase von einer eiweißarmen, wasserreichen Phase trennt (3), und jedenfalls werden hier die Adsorptionsvorgänge von Löslichkeitsveränderungen, „lyotropen Vorgängen“ im Sinne FREUNDLICHS, mit steigender Salzkonzentration verdeckt. Ganz entsprechende Salzwirkungen sind von anderen Löslichkeitsbeeinflussungen (ROTHMUND) (4) und der Salzwirkung auf Esterverseifung bekannt. Bei letzterer kehrt selbst die beim Eiweiß zu beobachtende Eigentümlichkeit wieder, daß bei Herstellung von saurer Reaktion die Ionenfällungsreihe sich umkehrt (5). Für das Eiweiß wurde die letztere Eigentümlichkeit im Anschluß an HARDY durch POSTERNAK und PAULI aufgedeckt (6). Die Veränderungen beim Aussalzen betreffen also in erster Linie das Lösungsmittel. Doch werden wir nicht, wie es bei SPIRO (7) sich findet, diese Beziehungen als die einzigen Vorgänge hinzustellen haben, sondern müssen im Anschlusse an die zuerst von BAYLISS (8) begründeten Anschauungen auch den Adsorptionsvorgängen bei der Salzbindung an Eiweiß eine Bedeutung zuerkennen, die allerdings nur bei verdünnten Salzen rein hervortritt.

Durch Zusatz von Säuren oder Alkalien gewinnt das elektroneutrale Eiweiß, wie gleichfalls aus den Arbeiten von PAULI klar hervorgeht, ganz andere Eigenschaften, die wir dem „ionisierten Eiweiß“ zuschreiben müssen. Daß hierbei die zugesetzten Ionen gebunden werden, geht aus der durch die Leitfähigkeitsabnahme nachzuweisenden Konzentrationsabnahme der zugesetzten Säuren oder Alkalien hervor, die innerhalb gewisser Konzentrationen so weit gehen kann, daß bei HCl-Zusatz nahezu sämtliche $H^{\cdot}$-Ionen gebunden werden (9). Dabei gewinnt das Eiweiß, wie

1) A. J. VANDEVELDE u. L. BOSMANS, Bull. Soc. Chim. Belg., *26*, 249 (1912); Kon. Vlaamsche Acad. 1912, p. 73. — 2) A. HERLITZKA, Biochem. Ztsch., *11*, 481 (1908). — 3) Vgl. H. CHICK u. CH. MARTIN, Biochem. Journ., *7*, 380 (1913). — 4) V. ROTHMUND, Ztsch. physikal. Chem., *33*, 401 (1900). — 5) R. HÖBER, Hofmeist. Beitr., *11*, 35 (1907). — 6) S. POSTERNAK, Ann. Inst. Pasteur, *15*, 85 (1901); Wo. PAULI, Hofmeist. Beitr., *5*, 27 (1903); HARDY, Ztschr. physik. Chem., *33*, 391 (1900). — 7) K. SPIRO, Hofmeist. Beitr., *4*, 300 (1903). — 8) W. M. BAYLISS, Biochem. Journ., *1*, 175 (1906). Vgl. auch FR. SIMON, Ztsch. physiol. Chem., *66*, 70 (1910), ferner K. MANABE u. J. MATULA, Biochem. Ztsch., *52*, 400 (1913). Koagulation durch Elektrolyte: BANCROFT, Journ. of Physic. Chem., *19*, 349 (1915). — 9) Lit. SJÖQVIST, Skand. Arch. Physiol., *5*, 277 (1894); *6*, 255 (1895). BUGARSKY u. LIEBERMANN, Pflüg. Arch., *72*, 51 (1898). MANABE u. MATULA, l. c. (1913).

Kataphoreseversuche zeigen, bei Säurezusatz elektropositive Eigenschaften, während es bei Alkalizusatz anodische Konvection aufweist. Die Wanderungsgeschwindigkeit usw. wurde besonders an Globulin und Casein wiederholt genau studiert (1). Über einen gewissen Zusatz von Säure hinaus findet natürlich Herabsetzung der Ionisierung des Eiweißsalzes statt und das Ionisationsmaximum ist überschritten. Säure- und Alkalieiweißbildung werden erfahrungsgemäß sehr leicht irreversibel und nur bei geringen Zusätzen, kurzer Einwirkungszeit und niederer Temperatur läßt sich durch Dialyse das unveränderte Eiweiß wiedererhalten. Für Weizengluten haben WOOD und HARDY (2) den Übergang in elektropositives und elektronegatives Eiweiß durch Zusatz von H· bzw. OH'-Ionen untersucht.

Wie die Untersuchungen von PAULI, MICHAELIS und anderen Forschern (3) gezeigt haben, geht die Zunahme der Viscosität nach dem Säure- oder Alkalizusatze völlig parallel der Ionisierung und erreicht ihr Maximum im Maximum der Ionisation, so wie sie ihr Minimum im isoelektrischen Punkte findet. Wenn man den Temperatureinfluß (4) auf die Viscosität beachtet, so kann man mithin das Viscosimeter zur Bestimmung des Ionisationsgrades einer Eiweißlösung verwenden.

Im Einklange mit allen diesen Erfahrungen steht die Feststellung von PAULI, daß mit dem Zusatze von Säure oder Alkali eine erhebliche Steigerung des osmotischen Druckes der Eiweißlösung verbunden ist. Daß schon durch geringe Säure- und Alkalizusätze beträchtliche Hemmungen der Koagulation durch Hitze und durch Alkohol gesetzt werden, wurde bereits erwähnt.

Das Säureeiweiß, Acidalbumin, der älteren Eiweißchemie, entspricht in allen Punkten der gegebenen Charakterisierung des ionischen Eiweiß. PAULI und HANDOVSKY (5) untersuchten die Viscositätserhöhung unter dem ionisierenden Einfluß verschiedener Säuren, und gaben für die einzelnen Säuren manche Besonderheiten an, welche weder mit der elektrolytischen Dissociation, noch mit der Valenz der Säuren in Zusammenhang gebracht werden können. So erhöht Oxalsäure die Viscosität viel stärker als Schwefelsäure, und Trichloressigsäure steht hinter der schwachen Essigsäure zurück. Wie zu erwarten, drücken Zusätze von Neutralsalz die Viscosität bedeutend herab, und zwar, wie die Verminderung der Leitfähigkeit zeigt, durch Herabsetzung der Ionisation. Die Ionisationsverminderung durch denselben Salz-

---

1) ROBERTSON, Journ. Physic. Chem., *11*, 542 (1907). Journ. biol. Chem., *2*, 317 (1907); *1*, 279 (1906). Journ. Physic. Chem., *14*, 709 (1910); *15*, 178 (1911); *16*, 382 (1912). HARDY, Journ. of Physiol., *33*, 251 (1905). Leitfähigkeit der Elektrolyte in wässeriger Gelatinelösung: A. DUMANSKI, Ztsch. physikal. Chem., *60*, 553 (1907). Ionenbeweglichkeit: WO. PAULI, Anzeig. Wien. Akad., 20. Nov. 1913. — 2) T. B. WOOD u. W. B. HARDY, Proc. Roy. Soc., B. *81*, 38 (1909). — 3) W. B. HARDY, Ebenda, *79*, B. 413 (1907); L. ZOJA, Koll.Ztsch., *3*, 249 (1908). W. E. RINGER, Bemmelen-Festschr. (1910), p. 243; S. B. SCHRYVER, Proc. Roy. Soc. (1910); *83*, B. 96; K. SCHORR, Biochem. Ztschr., *13*, 173 (1908); WO. PAULI u. HANDOVSKY, Ebenda, *18*, 340 (1909); L. MICHAELIS u. MOSTYNSKI, Ebenda, *25*, 401 (1910); HANDOVSKY, Ebenda, p. 510 (1910); PAULI u. R. WAGNER, Ebenda, *27*, 296 (1910); SCHORR, Ebenda, *37*, 424 (1911); WO. PAULI, Koll.Ztsch., *12*, 222 (1913); MANABE u. MATULA, Biochem. Ztsch., *52*, 369 (1913). C. GAZZETTI, Arch. di Fisiol., *11*, 173 (1913). F. BOTTAZZI u. E. D'AGOSTINO, Acc. Linc. Roma (5), *22*, II, 183 (1913). L. BLASEL u. J. MATULA, Biochem. Ztsch., *58*, 417 (1914). — 4) Temperatureinfluß: J. STARKE, Arch. de Physiol., *4*, 396 (1907); Rec. Inst. Botan. Bruxelles, *7*, 155 (1908). — 5) WO. PAULI u. H. HANDOVSKY, Biochem. Ztsch., *18*, 340 (1909). Für Weinsäure: G. BUGLIA u. L. KARCZAG, Atti Acc. Linc. (5), *18*, II, 374 (1909); Säureadsorption: D. CALUGAREANU, Soc. Biol., *72*, 835 (1912); Bull. Acad. Roum., *1*, 40 (1912); L. MICHAELIS u. P. RONA, Biochem. Ztsch., *27*, 38 (1910). Kernchromatin: F. PENTIMALLI, Arch. f. Entw.mechan., *34*, 444 (1912). Protaminsalze: ROBERTSON, Journ. of Physic. Chem., *16*, 382 (1912).

zusatz ist bei geringen Säurekonzentrationen relativ bedeutender als bei höheren. Während Säureeiweiß ohne Salzzusatz keine Hitzekoagulation zeigt, stellt schon geringer Salzzusatz eine merkliche Hitzegerinnung wieder her. Das Alkoholfällungsvermögen ist hingegen auch beim salzfreien Säureeiweiß gut ausgeprägt. HARDY sowohl als PAULI behaupten, daß die Salzwirkung auf Säureeiweiß immer mit einer Vermehrung der H·-Ionen verknüpft ist. Doch fanden CHICK und MARTIN (1), daß im Gegenteil eine Verminderung der H.-Ionenkonzentration erfolgt und daß die Angaben der genannten Forscher durch das abweichende Verhalten der benutzten Indicatoren bei Gegenwart von Eiweißlösung verursacht worden sind.

Beim Versetzen sorgfältig ausdialysierten praktisch fast elektroneutralen Eiweißes mit Alkalien nimmt das Protein elektronegative Ladung an und geht so wie bei Säurezusatz in Eiweißionen zum Teile über. ROBERTSON, dann PAULI und HANDOVSKY (2) haben sich in neuerer Zeit ausführlich mit dem elektronegativen Eiweiß beschäftigt, so daß wir im ganzen über dessen Eigenschaften gut orientiert sind. Gerade dieser Zustand von Eiweiß ist physiologisch außerordentlich wichtig, da der Gehalt an OH-Ionen in den Zellprotoplasmen es mit sich bringen muß, daß die Plasmaeiweißkörper als elektronegatives Eiweiß gelten können. Viele Eigenschaften teilt das Alkalieiweiß mit dem Säureeiweiß: Viscositätszunahme, Verlust der Fällbarkeit beim Kochen, und durch Alkohol treten auch hier hervor, und Alkalieiweiß ist sehr wenig beständig. Die Beziehung der Stärke der zugesetzten Base zur Viscositätszunahme ist hier im Gegensatze zu den entsprechenden Befunden beim Säureeiweiß deutlich ausgeprägt. Alkaliüberschuß wirkt so wie Säureüberschuß auf die Ionisierung zurückdrängend, und es ist bei einem bestimmten Alkaligehalt ein Maximum von Viscosität und Ionisierung vorhanden. Die Zurückdrängung der Ionisierung geht beim Alkalieiweiß mit steigendem Laugenzusatze so weit, daß hoher Alkaliüberschuß das Protein reichlich fällt, analog der Neutralsalzfällung. Die Wirkung von Neutralsalzzusatz zu Alkalieiweiß ist deshalb bemerkenswert, weil hier die Natur der Kationen sehr großen Einfluß besitzt. Erdalkalisalze fällen viel stärker als Alkalisalze, unter denen nur die Ammoniumsalze sich durch ein relativ starkes Fällungsvermögen auszeichnen. Die starke Wirkung der Erdalkali-Kationen erinnert uns sofort an die den Physiologen wohl bekannte antagonistische Wirkung von Ca und Na auf lebende Zellen. Eine Änderung der Reaktion durch Neutralsalzzusatz findet beim Alkalieiweiß nach CHICK und MARTIN gleichfalls statt, und zwar im Sinne einer Abnahme der Hydroxylionenkonzentration. PAULI hält den durch Neutralsalz aus Säureeiweiß und Alkalieiweiß gefällten Komplex nicht für identisch.

Wie erwähnt, faßt PAULI (3) die Schwermetallfällungen von Eiweiß als Erscheinungen auf, welche mit der Ausflockung entgegengesetzt geladener

---

1) H. CHICK u. MARTIN, Koll.chem. Beiheft, *5*, 92 (1913). Über Säure-Eiweiß ferner: WO. PAULI u. HIRSCHFELD, Biochem. Ztsch., *62*, 245 (1914); PROCTER, Journ. of Chem. Soc., *105*, 313 (1914); SÖRENSEN u. HÖYRUP, C. r. CARLSBERG, *12* (1917); A. BELAK, Biochem. Ztsch., *90*, 96 (1918); PROCTER u. WILSON, Journ. Chem. Soc., *109*, 307 (1916). — 2) T. BR. ROBERTSON, Journ. physic. Chem., *14*, 161, 377 u. 528 (1910); *15*, 166 (1911); Ebenda, 387 u. 521 (1911); Ergebn. d. Physiol., *10*, 216 (1910); WO. PAULI u. HANDOVSKY, Biochem. Ztsch., *24*, 239 (1910). Caseinate: PAULI u. MATULA, Ebenda, *99*, 219 (1919). Hydrolyse der Caseinalkalisalze: L. VAN SLYKE u. D. VAN SLYKE, Amer. Chem. Journ., *38*, 619 (1907). WO. PAULI, Biochem. Ztschr., *70*, 489 (1915); ROBERTSON u. MIYAKE, Journ. Biol. Chem., *25*, 351; *26*, 129 (1916). — 3) WO. PAULI u. L. FLECKER, Biochem. Ztsch., *41*, 461 (1912) und frühere Publikationen von PAULI. — Ältere Literatur: WO. PAULI, Hofmeist. Beitr., *5*, 27 (1903); Ebenda, *6*, 234 (1905); G. GALEOTTI, Ztsch. physiol. Chem., *44*, 461

Kolloide zu vergleichen sind, indem sehr verdünnte Schwermetallsalzlösungen in freie Säure und kolloid gelöstes Metallhydroxyd hydrolysiert sind und nur das letztere als Fällungsmittel in Betracht kommt. Daß gerade die Schwermetallsalze schwacher Säuren die am meisten geschätzten Fällungsmittel darbieten, beruht auf der geringen H-ionenkonzentration. Die Anionen treten in ihrer Bedeutung gegen die Metallionen sehr zurück und zeigen wenig Differenzen; auch bei den Kationen kann man bezüglich der Wertigkeit nur wenig Unterschiede finden, so daß sich diese Verhältnisse von den Neutralsalzfällungen sehr unterscheiden. Die untere Fällungsgrenze liegt äußerst niedrig. Hat man Eiweiß mit sehr verdünnter Schwermetallsalzlösung gefällt, so ist durch Wasserzusatz ein Wiederauflösen der Fällung nicht zu erzielen. Ist das Schwermetallsalz oder das Eiweiß aber im Überschuß zugegen, so ist die Fällung reversibel. Dementsprechend geht die durch Metallsalzzusatz erzielbare Viscositätszunahme wieder zurück, wenn man die Schwermetallsalzmenge steigert. Die lösende Wirkung überschüssiger Schwermetallsalzlösung könnte mit der Bildung von komplexen Verbindungen des Schwermetallsalzes mit Metallhydroxydeiweiß zusammenhängen. HERLITZKA (1) konnte bei der Eiweißfällung mit Silbernitrat eine Wärmetönung feststellen, was auf chemische Umsetzungen zu beziehen ist. Hingegen war bei Zusatz von Überschuß des Silbersalzes eine negative Wärmetönung zu beobachten, entsprechend dem Hinzutreten der Adsorption von Silbersalz durch das Eiweiß. Bezüglich des Einflusses der Neutralsalze auf die Eiweißschwermetallfällung ist es bemerkenswert, daß im Bereiche der Fällung aus sehr verdünnter Lösung eine Hemmung durch Neutralsalze, entsprechend den Befunden bei Säure- und Alkalieiweiß durch Herabsetzung der Ionisation zu beobachten ist. Hingegen wirken Neutralsalze Fällung verstärkend, wenn sie sich mit der Schwermetallsalzfällung in höheren Konzentrationen unter Bildung von Komplexverbindungen kombinieren und sie verhindern die Wiederauflösung des Niederschlages im Überschuß des Fällungsmittels. Dilatometrische Messungen von GALEOTTI (2) ergaben eine Volumzunahme bei der Metalleiweißfällung.

Von den Untersuchungen über Eiweißadsorption durch Kolloide, deren Betrachtung sich am besten an die Schwermetallfällung anschließt, haben viele, unter anderen die Arbeiten von LANDSTEINER, FRIEDEMANN, MICHAELIS und RONA, BILTZ und STEINER, PAULI und FLECKER (3) beachtenswerte Aufklärungen gebracht. Typisch lyophobe inorganische Suspensionskolloide, wie das As_2S_3 und andere Sulfide, die Edelmetallkolloide, flocken Eiweißlösung auch bei Überschuß des Fällungsmittels oder des Eiweiß aus. Elektrolyte hemmen diese Fällung, was zuerst von

---

(1905); *40*, 492 (1903); ferner S. LA FRANCA, Ebenda, *48*, 481 (1906). J. SIMON, Arch. di Fisiol., *8*, 361 (1910). $Al(OH)_3$fällung: J. MARSHALL u. W. H. WELKER, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 820 (1913). Kolloide Lösung von Metallpeptonaten: E. PATERNÒ u. F. MEDIGRECEANU, Koll.Ztsch., *12*, 65 (1913).

1) A. HERLITZKA, Biochem. Ztsch., *11*, 481 (1908); T. GAYDA, Ebenda, *25*, 341 (1910). — 2) G. GALEOTTI, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 421 (1912). Über Schwermetall-Eiweiß ferner: F. LIPPICH, Ztschr. physiol. Chem., *74*, 360 (1911); *90*, 236 (1914); BENEDICENTI u. REBELLO-ALVES, Biochem. Ztsch., *65*, 107 (1914); WO. PAULI u. MATULA, Ebenda, *80*, 187 (1917); BENEDICENTI, Arch. Farm. sper., *24*, 79 (1917). Eiweiß-Kupferverbindg.: SCALA, Festschr. f. Celli (1915), p. 137; OSBORNE u. LEAVENWORTH, Journ. Biol. Chem., *28*, 109 (1916). — 3) K. LANDSTEINER u. R. UHLIRZ, Zentr. Bakt., I, *40*, 265 (1906); U. FRIEDEMANN, Arch. Hyg., *55*, 361 (1906); A. MAYER, Soc. Biol., *61*, 353 u. 397 (1906); P. RONA u. L. MICHAELIS, Biochem. Ztsch., *3*, 109 (1907); *4*, 11 (1907). W. BILTZ u. H. STEINER, Ebenda, *23*, 27 (1909); W. PAULI u. L. FLECKER, Ebenda, *41*, 461 (1912)

Schulz und Zsigmondy (1) dazu benutzt wurde, um für die einzelnen Eiweißarten die charakteristische „Goldzahl" zu ermitteln, d. h. jene Anzahl von Milligrammen Kolloid, welche eben nicht mehr ausreicht, um 10 ccm einer gut bereiteten hochroten Goldlösung vor dem nach Zusatz von 1 ccm 10%iger NaCl-Lösung eintretenden Farbenumschlage nach Violett zu bewahren. Eine analoge „Schutzkolloidrolle" spielt nach Herlitzka (2) Eiweiß gegenüber Berlinerblauniederschlägen. Nichtelektrolyte, wie Zucker, kann man zur Hemmung dieser Eiweißflockung nicht verwenden. Vermöge seines amphoteren Charakters wird Eiweiß nicht nur von den genannten negativen lyophoben Kolloiden gefällt, sondern auch von den elektropositiven Metallhydroxydkolloiden, die sich überdies durch ihren deutlich lyophilen (Emulsoid)-Charakter von den vorgenannten Kolloiden unterscheiden. Ebenso fällen die negativen kolloidalen sauren Oxyde, wie Kieselsäure, Wolfram- und Molybdänsäure. Das lyophobe Kaolin und Meerschaum sind bekannte ausgezeichnete Mittel, um Eiweiß aus Lösungen zu entfernen, ebenso auch gallertiges Tonerdehydrat (3). Bei den solartigen Kolloiden wirkt ein Überschuß fällungshemmend. Weniger bestimmte Erfahrungen liegen hinsichtlich der Wechselwirkungen zwischen Eiweiß und den organischen Kolloiden vor. Daß auch hier die elektrische Ladung für den Ausfall entscheidend ist, geht aus manchem hervor. Filtrierpapier adsorbiert Eiweiß besonders bei elektropositiver Ladung stark, weil es ein negatives Kolloid ist (4). Mastixharz-Suspensoid ist nach Michaelis ein ausgezeichnetes Mittel, um Eiweiß durch kleine Elektrolytmengen zu fällen, wenn man so viel Mastix zusetzt, daß alles Eiweiß als Schutzkolloid verbraucht wird. Es flockt dann das Harz samt seinen Schutzhüllen aus (5). Ferner spielt auch bei derFarbstoffadsorption durch Eiweiß die elektrische Ladung, wie Bayliss (6) fand, die entscheidende Rolle. Elektronegative Farbstoffe werden in ihrer Adsorption durch Kationen gefördert, durch Anionen gehemmt. Bei elektropositiven Farbstoffen ist es umgekehrt. Physiologisch wichtig sind speziell die Adsorptionserscheinungen zwischen Enzymen und ihrem Substrat. Rohonyi (7) fand, daß diese Adsorptionskomplexe meist in verdünnten Salzlösungen löslich sind, ebenso bei Gegenwart von Säuren und Laugen. Auch Überschuß des einen oder des anderen Bestandteiles kann lösend wirken. Für das inaktivierte Pepsin ließ sich zeigen, daß es geradeso adsorbiert wird, wie wirksames Enzym. Von Interesse ist es, daß nach den Erfahrungen von Michaelis Eiweiß-Mastixkomplexe in Chloroform-Alkohol löslich sind, und es wäre denkbar, daß manche Plasmalipoide an Eiweiß adsorbiert, demselben ähnliche Lösungsverhältnisse verleihen wie sie Fette zeigen. Sonst sind Eiweißkörper, wie die alkohollöslichen Klebereiweißstoffe zeigen, höchstens in verdünntem Alkohol löslich und entschieden hydrophile Kolloide (8).

---

1) Fr. N. Schulz u. Zsigmondy, Hofmeist. Beitr., *3*, 137 (1903); E. Zunz, Arch. intern. de Physiol., *1*, 427 (1904); für Proteosen; Heubner u. Fr. Jacobs, Biochem. Ztsch., *58*, 352 (1913). — 2) A. Herlitzka, Arch. ital. de Biol., *44*, 169 (1905). — 3) Die quantitative Adsorption von Casein durch Tonerde ist irreversibel: Rakusin, Journ. russ. phys.chem. Ges. ,*47*, 1330, 1333 (1915). Polypeptide u. Tierkohle: Abderhalden u. Fodor, Fermentforsch., *2*, 151 (1918). Casein, Adsorptionskurve für Elektrolyte u. Kolloide: H. Palme, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 177 (1914). Adsorptionsfällung von Eiweiß durch Eiweiß: Beth af Ugglas, Biochem. Ztsch., *61*, 469 (1914). Tartrate: Gazzetti, Arch. di Fisiol., *12*, 377 (1914). — 4) J. Christiansen, Biochem. Ztsch., *47*, 226 (1912). — 5) Flockung durch Suspensionskolloide auch b. Brossa u. Freundlich, Ztsch. physik. Chem., *89*, 306. — 6) W. M. Bayliss, Biochem. Journ., *1*, 175 (1906). Ältere Angaben bei Heidenhain, Pflüg. Arch., *90*, 115 (1902); *96*, 440 (1903); Ztsch. wiss. Mikr., *19*, 431 (1903). Saure Farbstoffe: A. Ch. Hollande, C. r., *162*, 959 (1916). — 7) H. Rohonyi, Biochem. Ztsch., *53*, 179 (1913). — 8) Löslichkeit von Zein: G. Galeotti u. G. Giampalmo, Koll.Ztschr., *3*, 118 (1908).

Coffein und Theophyllin erhöhen nach PAULI und FALCK (1) die Viscosität von Eiweiß bedeutend, wahrscheinlich unter Bildung komplexer Salze; Leim zeigte das gleiche Verhalten nicht. Ähnliche Beziehungen dürften hinsichtlich der Phenole anzunehmen sein, welche COOPER (2) untersuchte. In Fett gelöstes Phenol soll nicht eiweißfällend und nicht giftig sein. Auch Chinonwirkungen wurden von diesem Forscher untersucht. Von Interesse sind sodann die Fällungserscheinungen mit Formaldehyd, welche unter Bildung von Methylenimidoverbindungen ablaufen. Nach SCHRYVER (3) hemmen Neutralsalze wie sonst entsprechend ihrem lyotropen Verhalten.

Nähere Untersuchung verdient die Pyridinwirkung auf Eiweiß, welche nach hier gemachten Beobachtungen unter starker Quellung und Viscositätszunahme verläuft. Dieser Stoff findet sich schon bei SPIRO (4) erwähnt, neben den analogen koagulationshemmenden Wirkungen von Piperidin, Anilin, Cholin und Harnstoff.

SPIRO (5) hat die Alkohole hinsichtlich ihrer Fällungskraft verglichen, und gefunden, daß die höheren Glieder der einwertigen Reihe bei einer viel geringeren Konzentration fällen als die niedrigen: Methylalkohol bei 17 bis 20%, Äthylalkohol bei 16—18%, Propylalkohol bei 11—13%, Butylalkohol bei 4—6% und Amylalkohol bei 2—4%. Nach Untersuchungen von CHAPMAN (6) im hiesigen Institut erfolgt aber die Denaturierung schon beim Butylalkohol vermöge dessen geringer Wasserlöslichkeit bedeutend langsamer als bei Propylalkohol, welcher hinsichtlich Konzentration und Wirkungsschnelligkeit alle anderen Alkohole übertrifft. Die höheren Alkohole, Heptyl-, Octylalkohol, wirken sowie Chloroform sehr wenig ein. Aceton ist nach WEYL (7) ein kräftiges Fällungsmittel. Für die physiologische Wirkung der Alkohole auf die Plasmaproteine ist es jedenfalls von Bedeutung, daß sie die Löslichkeit (8) und Ionisation der Salze in Eiweißlösungen herabdrücken. Thiosinamin bringt nach OEFELE (9) koaguliertes Eiweiß in Lösung.

Schließlich wäre den bereits vorgebrachten Daten über die Eiweißkoagulation durch Erhitzen noch eine Reihe bemerkenswerter Befunde beizufügen. CHICK und MARTIN (10) haben in gewisser Hinsicht Recht, wenn sie die Hitzekoagulation als eine Reaktion zwischen Eiweiß und Wasser betrachten. Nach BERCZELLER (11) würde auch die Vermehrung der Oberflächenspannung (Tropfenzahl) darauf hindeuten, daß gewisse Umsetzungen stattfinden. Doch konnte GAYDA (12) keinerlei Volumänderung bei der dilatometrischen Kontrolle der Hitzekoagulation sicherstellen. Wichtig ist die Sicherstellung von SÖRENSEN und JÜRGENSEN (13), daß bei der Hitze-

1) WO. PAULI u. O. FALCK, Biochem. Ztsch., *47*, 269 (1912). — 2) E. A. COOPER, Biochem. Journ., *6*, 362 (1912). — 3) S. B. SCHRYVER, Proc. Roy. Soc., *83*, B, 96 (1910). Früher BLUM, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 127 (1896). SCHWARZ, Ebenda, *31*, 460 (1901). BENEDICENTI, Arch. Anat. u. Physiol. (1897), p. 210. — 4) K. SPIRO, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 182 (1900); RAMSDEN, Journ. of Physiol., *27*, 23 (1902). — 5) K. SPIRO, Hofmeist. Beitr., *4*, 316 (1903). Auch J. SIMON, Arch. di Fisiol., *5*, 394 (1907). — 6) G. H. CHAPMAN, Intern. Ztsch. phys.chem. Biol., *1*, 293 (1914). — 7) TH. WEYL, Ber. chem. Ges., *43*, 508 (1910). — 8) H. E. ROAF u. E. ALDERSON, Biochem. Journ., *2*, 412 (1907). Chloroform: F. KRÜGER, Ztsch. Biol., *41*, 341 (1901). Hofmeist. Beitr., *3*, 67 (1903). O. LOEW u. ASO, Chem. Zentr. (1902), II, 388; SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *31*, 329 (1900). Verstärkung der Fällung durch Salze: O. MEYERHOF, Biochem. Ztsch., *86*, 325 (1918). — 9) OEFELE, Pharm. Zentr. Halle, *63*, 1 (1902). — 10) H. CHICK u. C. J. MARTIN, Koll.chem. Beiheft. *5*, 49 (1913). Journ. of Physiol., *40*, 404 (1910); *43*, 1 (1911); Ebenda, *45*, 61 u. 261 (1912). — 11) L. BERCZELLER, Biochem. Ztsch., *53*, 215 (1913). — 12) J. GAYDA, Ebenda, *39*, 400 (1912). — 13) S. P. L. SÖRENSEN u. E. JÜRGENSEN, Biochem. Ztsch., *31*, 397 (1911). Compt. rend. Lab. Carlsberg, *10*, 1 (1912). G. QUAGLIARIELLO, Biochem. Ztsch., *44*, 157 (1912).

koagulation immer eine Abnahme der Wasserstoffionen-Konzentration eintritt. Schon 1899 hat HARDY betont, daß man bei der Hitzekoagulation zwei Vorgänge zu unterscheiden habe, die Denaturierung des Proteins und die Agglutination, eine Auffassung, die durch die Arbeiten von PAULI und HANDOVSKY und CHICK und MARTIN voll bestätigt worden ist. Worin die Denaturierung begründet ist, konnte bisher nicht entschieden werden, doch liegt ihr sicher eine chemische Änderung des Eiweißes zugrunde. Wenn man dafür Sorge trägt, daß sich die H˙-Ionenkonzentration nicht ändert, so ist die Geschwindigkeit des Vorganges der noch nicht umgesetzten Eiweißmenge proportional (1), entspricht also den Verhältnissen unimolekularer Reaktionen. Nun ist es aber eine alte Erfahrung, die durch die genauen Untersuchungen von SÖRENSEN und CHICK und MARTIN exakt bewiesen wurde, daß eine Eiweißlösung, die vorher gegen Lackmus schwach sauer oder neutral reagierte, beim Erhitzen immer weniger sauer, ja selbst alkalisch wird (2). SÖRENSEN nimmt an, daß einer dialysierten, salzarmen, mit der optimalen HCl-Menge versetzten Ovalbuminlösung bei der Koagulation meßbare HCl-Mengen nicht entzogen werden, der Niederschlag daher aus dem Protein selbst bestehe. Bei stärker sauren Lösungen wird aber nach CHICK und MARTIN der größere Teil der Säure mit dem Eiweiß in Salzform entfernt, wenn Koagulation eintritt. Übrigens findet in alkalischer Eiweißlösung beim Erhitzen ganz entsprechend den Vorgängen in der sauren Lösung eine Verminderung der OH′-Konzentration statt. Während sich die Denaturierungsgeschwindigkeit von Eiweiß mit Erhöhung der H˙- und OH′-Konzentration vergrößert, verlangsamen Neutralsalze den Vorgang (3). Innerhalb des untersuchten Bereiches war der Temperaturkoeffizient der Koagulation ein sehr hoher, für Ovalbumin sogar 635 für 10°. Dies ist offenbar die Ursache dafür, daß die „Koagulationstemperaturen" für bestimmte Eiweißkörper praktische Bedeutung erlangt haben. CHICK und MARTIN machen mit Recht darauf aufmerksam, daß Koagulation auch bei viel niedrigeren Temperaturen stattfindet, allerdings nur mit ganz geringer Geschwindigkeit.

Die Agglutination des hitzedenaturierten Eiweiß wird, wie schon lange bekannt, durch schwach saure Reaktion glatt ermöglicht. MICHAELIS (4) hat dies dadurch erklärt, daß er zeigte, daß der isoelektrische Punkt, in dem die Flockung theoretisch am leichtesten stattfinden muß, bei Eiweiß auf der sauren Seite des Neutralpunktes liegt, und SÖRENSEN kommt zu dem Ergebnis, daß die optimale H˙-Ionenkonzentration wesentlich von dem sauren Charakter der Proteinstoffe herrührt und deshalb mit der Proteinkonzentration veränderlich sein muß. Sind Neutralsalze nicht zugegen, so liegt das Säureoptimum für die Fällung nach CHICK und MARTIN ungefähr bei einer H -Ionenkonzentration von $3 \cdot 10^{-6}$. Neutralsalze können die Agglutination außerordentlich stark beeinflussen, indem sie einmal die H˙-Ionenkonzentration ändern, andererseits die e ektrische Ladung des Eiweiß neutralisieren können. So ist es möglich, weit vom isoelektrischen Punkt

---

1) W. SUTHERLAND, Journ. of Physiol., *42* (1911) kommt zu einer anderen Geschwindigkeitsformel für die Koagulation. — 2) Vgl. auch den Wechsel in der H˙-Konzentration bei Bildung gewisser Eiweißverbindungen: C. L. A. SCHMIDT, Journ. of Biol. Chem., *25*, 65. — 3) Neutralsalzwirkung: Wo. PAULI, Hofmeist. Beitr., *10*, 53 (1907). Wo. OSTWALD, Koll.Ztschr., *2*, 108 (1907); M. G. MALFITANO, Compt. rend., *141*, 503 (1905); Schutzwirkung durch freie Farbsäuren: H. ARON, Biochem. Ztsch., *5*, 413 (1907). — 4) L. MICHAELIS u. P. RONA, Biochem. Ztsch., *27*, 38 (1910); *29*, 494 (1910). Vgl. auch L. VALLERY, Compt. rend., *155*, 417 (1912). Hitzegerinnung ferner: A. HOMER, Biochem. Journ., *11*, 292 (1917).

entfernt, durch hinreichenden Salzzusatz reichliche Hitzefällung zu erzielen. Dieser fällungsfördernde Salzeinfluß ist bereits eine alte Erfahrung.

Die Wirkung des Wassers beim Erhitzen von Eiweiß wird durch die oft erwähnte Tatsache illustriert, daß trockenes Eiweiß auf relativ sehr hohe Temperaturen, bis 150°, erhitzt werden kann, ohne daß es denaturiert wird. FARMER (1) fand, daß im Vacuum getrocknetes Eiweiß Lösungen liefert, die weniger leicht koagulieren, als Lösungen aus nicht vorbehandeltem Eiweiß. OSBORNE (2) konnte Proteine, die in 70% Alkohol löslich sind, mit diesem Alkohol kochen, ohne daß Gerinnung eintrat. Über gerinnungshemmende Einflüsse wird in der Literatur viel berichtet, ohne daß hinreichend klarer Aufschluß erteilt wird, welche Faktoren bei diesen Vorgängen in erster Linie beteiligt sind (3).

Durch höhere Temperaturen koagulieren kompliziert aufgebaute Proteide in der Regel sehr leicht, im Vergleiche zu den einfachen Albuminen und Globulinen.

Durch anhaltendes Schütteln kann man, wie RAMSDEN (4) zeigte, Eiweiß gleichfalls bald zum Koagulieren bringen. Dabei scheint die Oberflächenkonzentration an den Schaumflächen der wirksame Faktor zu sein. Auch diese Koagulation verläuft nie vollständig. Die Verdünnung der Eiweißlösung hat günstigen Einfluß auf die Schnelligkeit des Vorganges (SPADOLINI) (5). Ferner gerinnt Eiweiß leicht bei Kontakt mit adsorbierenden Oberflächen, wie Tierkohle, gebranntem Ton (6). BRIDGEMAN (7) gelang die Koagulierung von Eiweiß durch hydraulischen Druck (7000 Atmosphären, binnen 15 Minuten). Mechanische Denaturierung findet leicht bei eingetrocknetem Eiweiß beim Pulvern statt; ja bloßes Abkratzen der trockenen Eiweißkruste von einer Glasfläche beraubt das Eiweiß teilweise seiner Löslichkeit in Wasser (8).

Gelbildung findet sich bei den Eiweißkörpern irreversibel in den Gerinnungen, reversibel in der Gallertbildung, wie sie am schönsten vom tierischen Leim, Glutin, bekannt ist, und aus dem Pflanzenreiche kaum in gleichem Maße beobachtet wird. PAULI bemerkt mit Recht, daß es keinerlei Unterschiede im Verhalten von Gallerten und Solen der Proteine gibt, mit Ausnahme des eigentümlichen Zustandes, in welchem die Teilchen nicht wie in Solen frei beweglich sind, sondern durch stetige Übergänge bei steigender Konzentration und fallender Temperatur in immer stabiler werdende gegenseitige Lagen kommen. Diesen stetigen Übergang konnte MENZ (9) durch ultramikroskopische Befunde verfolgen und zeigen, daß eine wachsende Zahl von Submikronen erscheint, die beim Erstarren keine strukturelle Anordnung erkennen lassen. Bemerkenswert ist es, daß man auch aus Ovalbumin reversible Gallerten von analogem Verhalten erzeugen kann, wenn man konzentrierte Lösungen mit Alkali oder Säure versetzt (10).

Die Theorie des gallertigen Zustandes ist derzeit noch nicht klar. BÜTSCHLI, auf dessen Seite zahlreiche Biologen und Kolloidchemiker standen, nahm an, daß in Gallerten ein wabiges Gerüst anzunehmen sei, dessen

1) J. BR. FARMER, Proc. Roy. Soc., *66*, 329 (1900). — 2) T. B. OSBORNE, The Vegetable Proteins, London 1909, p. 21. — 3) G. CLAUTRIAU, Recueil Inst. bot., Bruxelles, *2*, 117 (1906). E. MARCHAL, Ebenda, p. 119. Formaldehyd und SO_2: G. MUNARETTI, Arch. Farm. Sper., *14*, 460 (1912). — 4) W. RAMSDEN, Arch. f. Physiol. (1894), p. 517. — 5) J. SPADOLINI, Arch. di Fisiol., *13*, 267 (1915). — 6) L. HERMANN, Pflüg. Arch., *26*, 442 (1881). — 7) BRIDGEMAN, Journ. of Biol. Chem., *19*, 511 (1914). — 8) HERZFELD u. KLINGER, Biochem. Ztsch., *78*, 349 (1916); WIECHOWSKI, Ebenda, *81*, 278 (1917). — 9) W. MENZ, Ztsch. physik. Chem., *66*, 129 (1909). — 10) G. MORUZZI, Biochem. Ztsch., *22*, 232 (1909). Vgl. auch P. v. WEIMARN, Chem. Zentr., 1910, II, 269 über „Peptisation" von Kolloiden.

Maschenräume von dem Quellungsmittel erfüllt seien. Zu dieser Theorie kam BÜTSCHLI auf Grund der Beobachtungen an feinen mikroskopischen Schäumen aus Gelatine und Olivenöl, welche Kammerbau zeigen. Doch haben namentlich die Untersuchungen von ZSIGMONDY keinerlei Anhaltspunkte dafür geliefert, daß solchen mikroskopischen Bildern tatsächlich feinere Struktureigentümlichkeiten analoger Art zugrundeliegen. Deshalb sind die von PAULI gegen die Wabentheorie vorgebrachten Argumente, wonach die Befunde BÜTSCHLIS nur echte Gerinnungserscheinungen darstellen, die man nicht unter allen Umständen bei der erstarrenden Gelatine erhalten muß, sehr zu beachten. Gegen die Wabenlehre scheint mir auch der Umstand zu sprechen, daß kontinuierliche Übergänge, ohne Änderung der wesentlichen physikalischen Eigenschaften von den Hydrosolen zu den reversiblen hydrophilen Gallerten führen, und das Merkmal des festen gallertigen Zustandes nicht das wesentliche desselben darzustellen scheint. Vielmehr sind Glutingallerte und Eiweißsole miteinander weit mehr wesensverwandt, als Glutingallerte und hydrophobe Gele vom Typus der aus Metallsolen ausgeschiedenen Massen.

Das Gesetz der Wasseraufnahme bei der Quellung von Gallerten hat PAULI auf Grund der experimentellen Angaben von HOFMEISTER dahin berechnet, daß die Geschwindigkeit des Vorganges in jedem Momente der Entfernung vom Endzustande einfach proportional ist; somit liegt formell dasselbe Verhältnis vor wie bei unimolekularen Reaktionen. Das Gesamtvolum der gequollenen Masse ist geringer als die Summe der Volumina der Substanz vor der Quellung und des aufgenommenen Wassers. Dies beruht auf der stattfindenden Verdichtung des Quellungswassers und äußert sich in der Temperaturerhöhung bei der Quellung bzw. in der Temperaturabnahme beim Entquellen. In Wasserdampf quellende Gelatine erreicht nicht jenen Grad der Wasseraufnahme, welchen das Gel in flüssigem Wasser als Endzustand gewinnt. Ultraviolette Strahlen beeinflussen nach TIAN (1) die Quellung von Glutin bei Gegenwart von hinreichenden Wassermengen in der Weise, daß die Gelatine verflüssigt wird. Es scheint sich um quellungsfördernde Wirkungen, nicht um Hydrolyse zu handeln. Elektrolyte beeinflussen die Quellung von Eiweißgallerten ganz analog wie die Fällung bzw. Fällungsverhinderung bei Eiweißsolen. Alle Salze, welche stark eiweißfällend wirken, wirken entquellend, und alle Fällung hemmenden Salze, wie Rhodanat, wirken quellungsfördernd. Nichtelektrolyte haben hier wie dort gleichfalls Einfluß, indem Zucker sowie Glycerin Quellung hindert (2). Diese lyotropen Wirkungen sind wesensgleich. Auch Umladung durch kleine Säure- resp. Alkalimengen findet statt, so daß elektronegativ aufgeladene Gallerten durch Sulfate stark, durch Rhodanat sehr wenig fällbar sind, während umgekehrt Sulfate die elektropositiv aufgeladenen Gele am schwächsten, Rhodanate letztere Gele am stärksten fällen. Neben den lyotropen Wirkungen der Salze kommen allerdings nach den Untersuchungen von SCHROEDER (3) noch direkte Wirkungen auf die Glutinteilchen in Betracht, wofür u. a. der Umstand spricht, daß Chloride, durch die Glutin noch stark gefällt wird, das Erstarren verflüssigter Gelatine ausgeprägt hemmen. Die von den Eiweißsolen beschriebenen Wirkungen von Säure und Alkali findet sich treu bei den Gallerten wieder, und auch hier hat man mit PAULI ionisierende Wirkungen, unter Quellungsvermehrung und Viscositäts-

1) A. TIAN, Compt. rend., *151*, 219 (1910). — 2) Vgl. auch FISCHER u. SYKES, Koll.Ztsch., *14*, 215 (1914); Mat.grass., *7*, 4202 (1914); HENDERSON u. COHN, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 857. — 3) SCHROEDER, Ztsch. physik. Chem., *45*, 75 (1903).

zunahme durch H'- und OH'-Ionen anzunehmen. Spuren von Säure oder Alkali bringen, wie bekannt, neutrale Gelatine zu mächtiger Quellung und verzögern das Erstarren (1). Quellungsminimum und Ionisationsminimum liegen auch hier im isoelektrischen Punkt. Schließlich kehrt die Neutralsalzwirkung bei der ionisierten Gelatine wieder, und Alkali haltendes Glutin zeigt nach PAULI dieselbe starke Beeinflussung durch Erdalkalisalze, wie Alkalialbuminat. In der Differenz der Wirkung von Erdalkali- und Leichtalkalisalzen auf die Quellung dürfte nach den wichtigen Untersuchungen von LOEB (2) der Schlüssel zur Erklärung des bekannten antagonistischen Verhaltens von Ca und Na in physiologischer Hinsicht liegen. Die Calciumgelatinate sind nicht quellbar und so gut wie undissoziiert. Die Umwandlung quellbarer Proteinsalze mit einwertigem Kation in solche Gelatinate muß eine bedeutsame Wirkung auf das Zellplasma äußern. Nach LOEB erfolgt additionelle Quellung, wenn Gelatine nach Behandlung mit NaCl mit einer schwächeren Salzlösung einwertiger Metalle durchtränkt wird. Die Grenzkonzentration für diesen Effekt ist hier doppelt so groß für einwertige Anionen als für zweiwertige.

Zustandsänderungen durch Lichtstrahlen sind bei Eiweiß hinsichtlich ultravioletter Strahlen mehrfach sichergestellt. Eiweißlösung koaguliert, jedoch erst nach längerer Bestrahlung und nur in konzentrierten Lösungen (3). Auch Radiumstrahlen können solche Veränderungen bei genügend langer Einwirkung hervorbringen. EFFRONT (4) wollte diese Lichtwirkungen mit der Wirkung von Wasserstoffperoxyd auf Eiweiß vergleichen. Bekannt ist das Irreversibelwerden hydrophiler Gele wie Leim nach Beleuchtung, wenn vorher oxydierende Stoffe, wie Chromverbindungen zugesetzt worden. Hier spielt Licht wohl nur die Rolle eines Katalysators, indem Chromatgelatine auch im Dunkeln sehr langsam unquellbar wird (5).

Die optischen Eigenschaften von Eiweißlösungen bieten vielfach großes Interesse. Zunächst läßt sich die refraktometrische Untersuchung in der Eiweißchemie gut verwenden. HERLITZKA (6) hat die Abhängigkeit des Brechungsindex von der Temperatur untersucht. Die Abhängigkeit des Brechungsvermögens von der Konzentration ist namentlich durch ROBERTSON (7) in einer längeren Untersuchungsreihe geprüft worden. Er nimmt an, daß man diese Beziehung durch die Formel $n - n' = a \cdot c$ ausdrücken kann, wobei n' und a Konstanten sind, n der Brechungsindex und c die Konzentration. OBERMAYER und PICK (8) verfolgten die Änderungen des Brechungsindex bei der Einwirkung von Fermenten und Säuren auf Eiweiß und sahen, daß die peptische Hydrolyse keine Änderungen erzeugt, wohl aber die tryptische. Wertvolle spektrographische Untersuchungen über die Absorption des ultravioletten Lichtes durch Eiweißlösungen lieferte DHERÉ (9).

1) R. CHIARI, Biochem. Ztsch., *33*, 167 (1911); für Muskel: R. ARNOLD, Kolloidchem. Beihft., *5*, 411 (1914). — 2) J. LOEB, Journ. of Biol. Chem., *33*, 531 (1918). — Über Quellung von Fibrin: E. HEKMA, Biochem. Ztsch., *62*, 161 (1914); Weizengluten: UPSON u. CALVIN, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1295. — 3) Hierzu GEO. DREYER u. O. HANSSEN, Compt. rend., *145*, 234 (1907). W. T. BOVIE, Science, *37*, 24 u. 373 (1913). Ferner F. SCHANZ, Münch. med. Woch.schr., 1915, p. 643; Pflüg. Arch., *164*, 3 u. 445 (1916); *169*, 82. — 4) J. EFFRONT, Compt. rend., *154*, 1111 (1912). — 5) Vgl. LUMIÈRE u. SEYEWETZ, Bull. Soc. Chim., (3), *33*, 1032, 1040; *35*, 14 (1905). — 6) A. HERLITZKA, Arch. ital. de Biolog., *57*, 95 (1912). — 7) T. BR. ROBERTSON, Journ. Physic. Chem., *13*, 469 (1909); Journ. biol. Chem., *7*, 359 (1910); *8*, 287 (1910); *9*, 181 (1911); *11*, 179 u. 307 (1912). Bezüglich Brechungsindex ferner E. REISS, Hofmeist. Beitr., *4*, 150 (1904). C. L. A. SCHMIDT, Journ. of Biol. Chem., *23*, 487 (1915); A. R. C. HAAS, Ebenda, *35*, 119 (1918). — 8) F. OBERMAYER u. E. P. PICK, Hofmeist. Beitr., *7*, 331 (1905). — 9) CH. DHERÉ, Rech. spectrograph. sur l'Absorption des Rayons ultraviolets par les albuminoides. Fribourg 1909.

Eiweißlösungen sind stets optisch aktiv, und zwar in der Regel linksdrehend. Nach den Zusammenstellungen von OSBORNE und HARRIS (1) beträgt die spezifische Drehung für:

Edestin aus Hanfsamen	— 41,3°
Globulin aus Leinsamen	— 43,53°
Excelsin aus Bertholletiasamen	— 42,94°
Amandin aus Mandeln	— 56,44°
Legumin aus Vicia Faba	— 44,09°
Phaseolin aus Schminkbohne	— 41,46°
Zein aus Mais	— 28,0°
Gliadin aus Weizen	— 92,28°

Nach GAMGEE (2) existieren aber auch Proteine, welche Rechtsdrehung aufweisen, wie Hämoglobin und manche Nucleoproteide. Da verschiedene Beimengungen ferner Säuren und Alkalien großen Einfluß auf die Drehungsintensität besitzen, so ist es schwierig, den Drehungswinkel zur chemischen Charakteristik der Eiweißkörper zu benutzen (3) DAKIN (4) hat nachgewiesen, daß man native Eiweißstoffe durch Behandlung mit n/2 NaOH bei 37° racemisieren kann, so daß bei der Hydrolyse nur inaktive Aminosäuren geliefert werden.

Schließlich noch Daten hinsichtlich der Verbrennungswärme von Eiweiß. Nach GRAFE (5) ist die Wärmetönung bei der fermentativen Eiweißspaltung praktisch gleich Null, so daß der gesamte calorische Wert den entstandenen Aminosäuren zukommt. Den letzten calorimetrischen Untersuchungen von BENEDICT und OSBORNE (6) seien die nachstehenden Zahlen mit der Bemerkung entnommen, daß die höchsten calorischen Werte jenen Eiweißstoffen zukommen, die den höchsten Kohlenstoffgehalt und den niedrigsten Sauerstoffgehalt besitzen.

	Calorien pro Gramm		Calorien pro Gramm
Amandin	5543	Conglutin der blauen Lupine	5475
Corylin	5590	Conglutin a, gelbe Lupine	5542
Excelsin	5737	Conglutin b, gelbe Lupine	5359
Edestin	5635	Vicilin	5683
Globulin v. Gossypium	5596	Legumelin	5676
Vignin	5718	Gliadin	5738
Glycinin	5668	Glutenin	5704
Legumin	5620	Globulin aus Weizen	5358
Phaseolin	5726	Hordein	5916
		Bynin	5807

1) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 842 (1903). Für Triticonucleinsäure: OSBORNE, Amer. Journ. of Physiol., *9*, 69 (1903). Gliadin: W. E. MATHEWSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1482 (1906). LINDET u. L. AMMANN, Compt. rend., *145*, 253 (1907). Casein: J. H. LONG, Chem. Zentr. (1905), I, 1568. — 2) GAMGEE u. CROFT HILL, Hofmeist. Beitr., *4*, 1 u. 10 (1903). Ber. chem. Ges., *36*, 913 (1903). Soc. Biol., *55*, 223 (1903). Die Ausführungen von J. BEARD, Biol. Zentr., *33*, 150 (1913) über rechts- u. linksdrehendes Eiweiß sind wertlose Phantasien. — 3) Vgl. BÜLOW, Pflüg. Arch., *58*, 207 (1894). FRAMM, Ebenda, *68*, 144 (1897). WO. PAULI u. SAMEC, Bioch. Ztsch., *59*, 470 (1914); für Proteinsalze; RAKUSIN, Journ. russ. phys.chem. Ges., *47*, 144, 147, 1050, 1059, 1330 (1915). — 4) H. D. DAKIN, Journ. of biol. Chem., *13*, 357 (1912). DAKIN u. H. W. DUDLEY, Ebenda, *15*, 263 (1913). — 5) E. GRAFE, Arch. Hyg., *62*, 216 (1907). — 6) FR. G. BENEDICT u. TH. B. OSBORNE, Journ. biol. Chem., *3*, 119 (1907). Ältere Daten bei BERTHELOT u. ANDRÉ, Ann. Chim. et Phys. (6), *22*, 5 u. 25 (1891). F. STOHMANN u. LANGBEIN, Journ. prakt. Chem., *44*, 336 (1891). B. DANILEWSKY, Pflüg. Arch., *36*, 237 (1885).

§ 3.

Zusammensetzung und chemischer Charakter der Eiweißstoffe.

Elementaranalysen. Für die Sicherstellung der empirischen Zusammensetzung der Eiweißstoffe sind vor allem die natürlich vorkommenden und rein dargestellten krystallisierten Proteine sowie künstlich gewonnene Eiweißkrystallpräparate wertvoll, die denn auch häufig analysiert worden sind.

Die nachfolgende Tabelle enthält eine Reihe von Elementaranalysen, die den Arbeiten von Osborne (1) entnommen sind. Nur die Analyse des Proteins aus Dioscorea stammt von Ishii (2). Zum Vergleiche sind Analysenergebnisse von Ovalbumin des Hühnereies von Hofmeister (3) und des Serumalbumins von Michel (4) angeschlossen.

	C%	H%	N%	S%	O%	O+S%
Gliadin	52,72	6,86	17,66	1,02	21,74	
Glutenin	52,34	6,83	17,49	1,08	22,26	
Prolamin	52,75	6,84	17,72	1,21	21,48	
Hordein	54,29	6,80	17,21	0,83	20,87	
Zein	55,23	7,26	16,13	0,60	20,78	
Phaseolin	52,58	6,84	16,48	0,56	23,54	
Legumin	51,72	6,95	18,04	0,41	22,88	
Vicilin	52,29	7,03	17,43	0,17	23,08	
Legumelin	53,31	6,97	16,26	1,08	22,38	
Glycinin	52,12	6,93	17,53	0,79	22,63	
Vignin	52,64	6,95	17,25	0,50	22,66	
Conglutin α	50,91	6,88	17,93	0,52	23,76	
Gonglutin β	49,58	6,80	18,27	1,42	23,93	
Excelsin	52,48	7,11	18,17	—	—	22,24
Cucurbitaglobulin	51,42	6,83	18,64	0,90	22,21	
Ricinusglobulin	51,25	6,97	18,74	—	—	23,04
Edestin	51,26	6,86	18,68	0,94	22,26	
Linumglobulin	51,48	6,94	18,60	0,81	22,17	
Gossypiumglobulin	51,71	6,86	18,64	0,62	22,17	
Amandin	51,41	6,86	19,47	0,39	21,87	
Corylin	51,44	6,94	19,07	0,55	22,0	
Juglansin	50,83	6,79	19,05	0,89	22,44	
Helianthusglobulin	51,64	6,99	18,58	1,00	21,89	
Cocosglobulin	51,23	6,90	18,40	1,06	22,41	
Tuberin	53,62	6,80	16,15	1,22	22,21	
Dioscoreawurzelprotein	52,82	7,53	14,20	—	—	25,5
Ovalbumin	53,36	7,31	15,06	1,01		
Ovalbumin	53,21	7,21	14,99	1,18		
Serumalbumin	53,08	7,10	15,93	1,90	21,99	

Die Versuche, die in den Analysen aufgefundenen Abweichungen im C-, N- und S-Gehalte zur Gruppierung der Proteinstoffe in Beziehung zu bringen, haben zu keinem einwandfreien Ergebnis geführt (5).

---

1) Th. B. Osborne, Die Pflanzenproteine. Ergebn. d. Physiologie, X. Jahrg., p. 47. Wiesbaden 1910. — 2) J. Ishii, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *2*, 97 (1894). — 3) Fr. Hofmeister, Ztsch. physiol. Chem., *16*, 185 (1892). — 4) Michel, Verhandl. Würzburg. phys. med. Gesellsch., *29*, 117 (1895). — 5) Vgl. Schmiedeberg, Arch. exp. Pathol., *39*, 1 (1897). Cohnheim, Chemie d. Eiweißkörper.

Der Aschengehalt, den die Analysen auch bei den reinsten Eiweißpräparaten regelmäßig aufweisen, ist hinsichtlich seiner Bedeutung nicht ganz erklärt. Es läßt sich nicht in allen Fällen entscheiden, ob es sich um konstitutive Bestandteile handelt oder nicht, da bei dem enormen Molekulargewichte der Proteinstoffe nur sehr wenig von dem Aschenstoffe erforderlich ist, um Verbindungen zu formieren (1). Doch darf man annehmen, daß in der größeren Zahl der Fälle Ionenadsorptionen vorliegen und keine echten chemischen Verbindungen.

Molekulargewicht. An Versuchen die „Größe des Eiweißmoleküls" und das Molekulargewicht verschiedener Eiweißstoffe zu ermitteln, haben sich zahlreiche Forscher beteiligt (2). Wie bei anderen Kolloiden, so versagen auch hier die gewöhnlich angewendeten Methoden ganz oder bieten nur sehr geringe Sicherheit. Sabanajew und Alexandrow (3) berechneten aus der Gefrierpunktsdepression für Ovalbumin das Molekulargewicht 14270. Hofmeister (4) hatte nur das Molekulargewicht 5378 angenommen, während Sutherland (5) zu der Zahl 32814 kommt mit der empirischen Formel $C_{1436}H_{2364}N_{359}O_{482}S_{15}$. Damit stimmen auch die Zahlen von Sörensen überein. Die älteren Autoren gaben meist kleinere Zahlen an. Schulz schreibt dem Serumalbumin das Molekulargewicht 5100 zu, dem Oxyhämoglobin 14800, dem Casein mindestens 4000. Für Albumosen und Peptone haben sich in allen Fällen viel geringere Werte ergeben. Zur Schätzung des Molekulargewichtes benutzte man den Gehalt an Schwefel oder an Phosphor, oder zog die Jodsubstitutionsprodukte bei dieser Beurteilung heran. Zu berücksichtigen bleibt in allen Fällen, daß die gefundenen Werte nicht für jede Konzentration in gleicher Weise verläßlich sind, da die Partikel in verdünnten Lösungen kleiner sind als in konzentrierteren. Bezüglich der Auffassung der salzartigen Verbindungen der Eiweißkörper mit Säuren und Basen haben sich die Ansichten in neuerer Zeit dahin geklärt, daß in den Proteinstoffen freie Aminogruppen und COOH-Gruppen vorhanden sind, wodurch die Proteine den Charakter von amphoteren Stoffen, wie es die Aminosäuren sind, erhalten. Von der richtigen Beobachtung ausgehend, daß die neutralen Eiweißstoffe nicht ionisiert sind, wohl aber in elektrolytisch dissoziierte Stoffe übergehen, wenn sie mit Säuren oder Basen zusammenkommen, hatten Cohnheim und Krieger (6) die Eiweißstoffe mit den Pseudosäuren und Pseudobasen von Hantzsch (7) zu vergleichen gesucht. Bredig und Winkelblech (8) haben hierauf die richtige Ansicht geltend gemacht, daß es sich hier um amphotere Elektrolyte, „Ampholyte" handle. Starken Basen gegenüber verhalten sich solche Stoffe wie schwache Säuren und bilden Anionen, während sie mit starken Säuren zusammengebracht Kationen formieren. Messende Angaben über die Säure- und Basen-

---

1) Salkowski, Ztsch. Biolog., *37*, 401 (1899); G. Malfitano, Compt. rend., *141*, 503 (1905). W. M. Bayliss, Journ. Biochem., *1*, 175 (1906). — 2) Vgl. Fr. N. Schulz, Größe d. Eiweißmoleküls (1903). Harnack, Ztsch. physiol. Chem., *5*, 198 (1881). Vaubel, Chem.-Ztg., *23*, 82 (1899); Journ. prakt. Chem., *60*, 55 (1899). Grübler, *23*, 97 (1881). Paal, Ber. chem. Ges., *31*, 956 (1898). Sjöqvist, Skand. Arch. Physiol., *5*, 277 (1895). Starling, Journ. of Physiol., *24*, 257 (1899). Sogar die Dimensionen der Eiweißmolekel werden von H. Devaux, Soc. Sei. phys. et nat., Bordeaux (19. Nov. 1903) erwogen. — 3) A. Sabanajew u. Alexandrow, Malys Jahresber., *21*, 11 (1891). — 4) Fr. Hofmeister, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 159 (1897). — 5) W. Sutherland, Chem. Zentr. (1905), II, 141. — 6) Cohnheim u. Krieger, Ztsch. Biolog., *40*, 95 (1900). — 7) Hantzsch, Ber. chem. Ges., *32*, 575 (1899). — 8) Bredig, Ztsch. Elektrochem., *6*, 33 (1899). Winkelblech, Ztsch. physikal. Chem., *36*, 546 (1901). Vgl. auch Spiro u. Pemsel, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 233 (1898).

kapazität rühren von einer Reihe von Forschern her (1). Es gibt Eiweißstoffe, welche entschieden basischen Charakter haben, wie die durch Ammoniak fällbaren Histone. Dieselben enthalten besonders viele freie NH_2-Gruppen durch ihren Gehalt an Diaminoresten. Andererseits verhalten sich die Globuline ähnlich wie schwache Säuren. Die Nucleoalbumine haben noch stärker saure Eigenschaften, röten Lackmus und treiben CO_2 aus. Auch die Phytovitelline der Pflanzensamen bilden gut krystallisierende Kalk- und Magnesiumsalze. Hier sind offenbar zahlreichere freie COOH-Gruppen vorhanden.

Amphotere Substanzen gestatten nicht die direkte Titration der Acidität. Schiff (2) hat zuerst gefunden, daß Aminosäuren und Proteinstoffe auf Zusatz von Formol sauer werden, indem sich die Aminogruppen mit $H \cdot COH$ zu Methylenimidgruppen $CH \cdot N : CH_2$ umsetzen. Sörensen (3) zeigte weiter, daß diese Reaktion unter Titration mit Lauge erst dann praktisch angewendet werden kann, wenn man einen Indicator verwendet, der uns eine genügend große OH-Konzentration anzeigt, wie Phenolphthalein, oder noch besser das einen blauen Umschlag gebende Thymolphthalein. Da die Aminosäuren nicht gleich starke Acidität und Basicität besitzen, sondern etwas stärkere Säuren als Basen sind, so darf man nicht den Neutralitätspunkt als Ausgang für die Titrierung nehmen, sondern eine durch empfindliches Lackmuspapier angezeigte ganz schwach saure Reaktion. Auf die kritische Besprechung dieser von Sörensen und den anderen angeführten Forschern sehr genau studierten wichtigen Methode kann hier nicht eingegangen werden. Sie leistet wertvolle Dienste bei der Verfolgung des stufenweisen Abbaues der Eiweißkörper, wobei allmählich die Zahl der freien COOH-Gruppen gesteigert wird. Andererseits ließ sich das Formolverfahren in Kombination mit der Desamidierungsmethode zur Bestimmung der vorhandenen freien NH_2-Gruppen bei verschiedenen Eiweißkörpern heranziehen, und es haben in der Tat dahin gerichtete Untersuchungen von Obermayer und Willheim (4) Unterschiede bei verschiedenen Eiweißkörpern hinsichtlich des Quotienten Gesamt-Stickstoff : Zahl der endständigen NH_2-Gruppen, der als „Amino-Index“ bezeichnet worden ist, aufgefunden (5).

§ 4.

Abbau des Eiweißmolekels; Eiweißhydrolyse und die Endprodukte derselben (6).

Wie bei allen Konstitutionsforschungen, so hat auch bei den Eiweißkörpern der nach verschiedenen Methoden ausgeführte planmäßige Abbau

1) Spiro u. Pemsel, l. c. Cohnheim, Ztsch. Biol., *33*, 489 (1896). W. Erb, Ebenda, *41*, 309 (1901). L. v. Rhorer, Pflüg. Arch., *90*, 368. (1902). Osborne, Amer. Journ. Physiol., *5*, 180 (1901). — 2) H. Schiff, Lieb. Ann., *310*, 25 (1899); *319*, 59 u. 287 (1901); *325*, 348 (1902). — 3) S. P. L. Sörensen, Biochem. Ztsch., *7*, 45 (1907). Compt. rend. Carlsberg, *7*, 20 u. 58 (1907); Ztsch. physiol. Chem., *64*, 120 (1910). O. Bailly, Bull. Sci. Pharm., *18*, 702 (1911); H. Jessen-Hansen, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *6*, 262 (1912); F. Obermayer u. Willheim, Biochem. Ztsch., *50*, 369 (1913). A. Costantino, Ebenda, *51*, 91 (1913). A. Clem[illegible], Atti Acc. Linc. (5), *24*, 352 (1915); Ebenda, p. 51 u. 102; Arch. Farm. sper., *21*, 215 (1916). Glagolew, Biochem. Ztsch., *70*, 117 (1915). Bang, Ebenda, *72*, 101 (1915); Jodidi, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 1031 (1918). — 4) Fr. Obermayer u. R. Willheim, Biochem. Ztsch., *38*, 331 (1912); *50*, 369 (1913). Kolloidchem. üb. Desamidoglutin: Blasel, Ebenda, *58*, 417 (1914). — 5) Vgl. auch die Gegenüberstellung der Methylierungsmethode mit der Formoltitrierung bei S. Edlbacher, Ztsch. physiol. Chem., *107*, 52 (1919). — 6) Vgl. bes. Fr. Hofmeister, Ergebn. d. Physiol., I, *1*, 764 (1902). Zemplen u. Fuchs, Abderhaldens biochem. Handlexik., *9*, 65 (1915).

zu den wichtigsten Aufschlüssen über Aufbau und verwandtschaftliche Beziehungen geführt. Man bediente sich der Einwirkung von Enzymen, Säuren und Alkalien in verschiedenen Konzentrationen, auch in Kombination mit erhöhtem Druck, der Kalischmelze, einer Reihe von oxydierenden Mitteln, der Einführung von Halogenen, Nitrogruppen und anderer Substitutionen. Weitaus die größte Bedeutung hat neben der enzymatischen Hydrolyse der Abbau durch verdünnte Mineralsäuren erlangt, durch welchen eine erschöpfende Kenntnis der einzelnen konstituierenden Gruppen, der „Bausteine" des Eiweiß, wie ein vielgebrauchter Ausdruck von ABDERHALDEN lautet, vermittelt worden ist. Zweifelsohne erhält man als schließliche Produkte der Säurehydrolyse eine Reihe von verschiedenen Aminosäuren, aus jeder Eiweißart in charakteristischer Auswahl und Menge, so daß kein Zweifel mehr bestehen kann, daß diese Gruppierungen, welche Aminosäureresten entsprechen, bereits im Eiweiß vorgebildet sind, und nicht erst sekundär bei der Säurehydrolyse entstehen. Die gegenteilige Ansicht, wie sie von O. LOEW (1) noch bis in die letzte Zeit vertreten wird, kann nicht mehr anerkannt werden. Die Art der verwendeten Säure ist nach den vorliegenden Erfahrungen (2) nicht von Belang für den Erfolg der Reaktion. Verdünnte Säure bei niedrigerer Temperatur gestattet ähnliche Effekte zu erreichen wie mit peptonisierenden Enzymen (3).

Die Gruppierungen höherer Ordnung konnten mit Hilfe der Hydrolysenmethoden in neuerer Zeit gleichfalls zum Teile festgestellt werden. Am längsten bekannt sind hiervon jene noch immer sehr großen Komplexe, die man reichlich bei der Pepsinwirkung als Proteosen und Peptone erhält. Die Brücke zu den Peptonen bilden aber jene, zuerst auf Grund mehr spekulativer Prinzipien erschlossenen, Verkettungen von Aminosäuren, welche E. FISCHER, der sich um die Kenntnis dieser hochwichtigen Stoffe die allergrößten Verdienste erworben hat, als Polypeptide benannt hat. Hiervon später.

Eine wichtige methodische Aufgabe war es, das dunkel gefärbte Reaktionsgemisch, wie es aus der Säurehydrolyse resultiert, genau quantitativ zu analysieren, so daß man sagen kann, wieviel von dem Eiweiß-N und dem Eiweißkohlenstoff, sowie von Schwefel auf jede einzelne Aminosäuregruppe entfällt. In dieser Richtung hat es sich zunächst als möglich herausgestellt, die verschiedenen Bindungsarten des Eiweißstickstoffes quantitativ zu erforschen, und so eine Gruppierung der einzelnen Kerne in großen Zügen zu erlangen. Auf Grund von Anregungen seitens NASSE und E. SCHULZE hat zunächst HAUSMANN (4) in HOFMEISTERS Laboratorium einen solchen Weg angegeben, der sich in der Folge in den Händen OSBORNES und anderer Forscher (5) als sehr nutzbringend erwiesen hat. Für die Bestimmung des

1) O. LOEW, Chem.-Ztg., *29*, 604 (1905). — 2) Lit. E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 477 (1910). Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 470 (1909). LEVENE u. ALSBERG, Biochem. Ztsch., *4*, 312 (1907). A. OSWALD, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 492 (1909). M. PFANNL, Monatsheft. Chem., *31*, 81 (1910). ZD. SKRAUP u. TÜRK, Ebenda, *30*, 287 (1909). H. MATHIEU, Compt. rend., *148*, 1218 (1909); Journ. de Physiol., *11*, 393 (1909). Fluorwasserstoffsäure: L. HUGOUNENQ u. A. MOREL, Compt. rend. *146*, 1291 (1908); Bull. Soc. Chim. (4), *3*, 1146 (1908); Compt. rend., *149*, 41 (1909). Ameisensäure: N. ZELINSKJI, Chem.-Ztg., *36*, 824 (1914). Alkoholische Säuren: K. LANDSTEINER, Biochem. Ztsch., *58*, 362 (1914); WEIZMANN, Biochem. Journ., *7*, 437 (1913); HERZIG u. LANDSTEINER, Biochem. Ztsch., *67*, 334 1914). — 3) E. SWIRLOWSKY, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 252 (1906). — 4) W. HAUSMANN, Ztsch. physiol. Chem., *27*, 95 (1899); *29*, 136 (1900). FRIEDMANN, Ebenda, *29*, 51 (1899). — 5) OSBORNE u. HARRIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 323 (1903). Ztsch. analyt. Chem., *43*, 286 (1904). C. H. ROTHERA, Hofmeist. Beitr., *5*, 442.

Gesamtstickstoffes (1) im Eiweiß, wie in den einzelnen Fraktionen kommt heute kaum eine andere Methode in Betracht, als die genial von KJELDAHL ersonnene. Sie beruht auf der quantitativen Überführung des Eiweißstickstoffes in Ammoniak bei der eingreifenden Behandlung mit kochender konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz eines passenden Katalysators; ihre genaue Beschreibung wird in allen analytischen Handbüchern geliefert (2). Daß der Gesamt-N auf diese Weise als Ammoniak erhalten wird, beweist uns, daß derselbe nur als Amid-N oder Imid-N vorliegen kann oder in solchen übergeht. Es läßt sich jedoch ein Teil des Eiweiß-N leicht schon durch gelinde Säureeinwirkung als NH_3 abspalten und kann nach Übersättigen des Reaktionsgemisches mit Magnesia überdestilliert und quantitativ bestimmt werden. Dies ist die als „leicht abspaltbarer N" oder als „Amid-N" bezeichnete Fraktion. Von den im Destillationsrückstande befindlichen, weitaus die größte N-Menge enthaltenden N-Verbindungen kann ein weiterer Anteil durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen werden. Hierbei scheiden sich die auch aus verdünnter Lösung fällbaren Phosphowolframate der Diaminosäuren Lysin, Arginin und Histidin aus (3). Im Filtrate bleiben die Monaminosäuren, deren Gesamt-N nach KJELDAHL summarisch bestimmt wird, und die nun nach dem von E. FISCHER (4) begründeten Verfahren der Überführung in die Äthylester und deren fraktionierte Destillation getrennt werden.

Will man die Abbauprodukte nach der Estermethode isolieren, so wird man den Eiweißabbau von vornherein mit rauchender Salzsäure vornehmen. Der stark eingeengte Rückstand der Reaktionsprodukte wird mit dem mehr-

---

1) In bestimmten Fällen könnte auch die mikrogasometrische N-Bestimmung nach PREGL in Betracht kommen. Hierzu DUBSKY, Chem.-Ztg., *40*, 201 (1916); H. FISCHER, Ber. chem. Ges., *51*, 1322 (1918). — Die Methode von O. FOLIN u. FARMER, Journ. biol. Chem., *11*, 493 (1912), das NH_3 colorimetrisch mit NESSLER-Reagens zu bestimmen, ist weniger genau. Hierzu: GULICK, Journ. biol. Chem., *18*, 541 (1914); FOLIN, Ebenda, *21*, 195 (1915); *26*, 473 (1916); BOCK u. BENEDICT, Ebenda, *20*, 47 (1915); KAHN, Ebenda, *28*, 203 (1916); HARDING u. WARNEFORD, Ebenda, *21*, 69 (1915); ROSE u. COLEMAN, Biochem. Bull., *3*, 407 (1914). — 2) In der Modifikation von WILFARTH, Chem. Zentr. (1885), p. 17. Historisches b. SALKOWSKI, Biochem. Ztsch., *82*, 60 (1917). — NEUBERG, Hofmeist. Beitr., *2*, 214 (1902). BÖMER, Chem.-Ztg., *19*, 166 (1895). L. SÖRENSEN u. C. PEDERSEN, Compt. rend. Carlsberg, *6*, 126 (1905). Ztsch. physiol. Chem., *39*, 513 (1903). W. VAN RIJN, Pharm. Weekbl., *48*, 27 (1911). P. RONA, Abderhald. Handb. biochem. Arb.meth., *1*, 340 (1909). HEUBNER u. WIEGNER, Journ. f. Landw., *57*, 385 (1910). A. C. ANDERSEN, Skand. Arch. Physiol., *25*, 96 (1911). KIMBERLY u. ROBERTS, Journ. Infect. Diseas., Suppl.bd. II (1906). J. A. BROWN, Chem. News, *102*, 51 (1910). P. A. SELF, Pharm. Journ. (4), *34*, 384 (1912); E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *57*, 523 (1908). SIEGFRIED u. WEIDENHAUPT, Ebenda, *76*, 238 (1911). C. NEUBERG, Biochem Ztsch., *24*, 435 (1910). R. KOEFOED, Compt. rend. Carlsberg, *10*, 52 (1912). R. NEUMANN, Chem.-Ztg., *36*, 613 (1912). HOTTINGER, Biochem. Ztsch., *60*, 345 (1914); DAKIN u. DUDLEY, Journ. Biol. Chem., *17*, 275 (1914); MARINO u. GONNELLI, Atti Acc. Linc. (5), *23*, I, 523 (1914); BUNGE, Pharm. Zentr., Halle, *54*, 1127 (1914); WUNDER, Ann. Chim. analyt. appl., *19*, 329 (1914); HOLMES, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 1010 (1914); NOLTE, Ztsch. analyt. Chem., *54*, 259 (1915); *55*, 185 (1916); *56*, 391 (1917); VILLIERS u. MOREAU-TALON, Bull. Soc. Chim. (4), *23*, 308 (1918); ZIMMERMANN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *9*, 615 (1919). — Über Mikro-Kjeldahl: SAHLSTEDT, Skand. Arch. Physiol., *31*, 367 (1914); KOCHMANN, Biochem. Ztsch., *63*, 479 (1914); ABDERHALDEN u. FODOR, Ztsch. physiol. Chem., *98*, 190; SJOLLEMA u. HETTERSCHY, Biochem. Ztsch., *84*, 359 (1917); BANG, Ebenda, *88*, 416 (1918); PINKUSSOHN, Ebenda, *99*, 267 (1919). — 3) Phosphorwolframate: M. BARBER, Monatsheft. Chem., *27*, 379 (1906). LEVENE, Journ. Exp. Med., *8*, 463 (1906). Proceed. Sect. Am. Chem. Soc. January 1906. Ztsch. physiol. Chem., *47*, 149 (1906). Monaminosäuren werden nur zum Teil und nur in ganz konzentrierter Lösung gefällt. Vgl. auch DRUMMOND, Biochem. Journ., *12*, 5 (1918). — 4) E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *33*, 153 (1901). Ber. chem. Ges., *34*, 433 (1901). E. ABDERHALDEN, Handb. biochem. Arb.meth., *1*, 470 (1910). B. O. PRIBRAM, Monatsheft. Chem., *31*, 51 (1910).

fachen Volum absoluten Alkohols versetzt und mittels gasförmigem HCl verestert. Um aus den Esterchlorhydraten die freien Äthylester zu gewinnen, hat man mit Natronlauge unter starker Kühlung zu verseifen und die freien Ester mit Äther aufzunehmen. Nach Entfernung des Äthers können die Ester unter stark vermindertem Druck durch Erwärmen auf dem Wasserbade, sodann auf dem Ölbade bis zu 180° fraktioniert destilliert werden. Dieser gar nicht einfach auszuführende Prozeß gestattet es bis jetzt noch nicht mehr als 50—60% der vorhandenen Aminosäuren zu gewinnen (1); auch aus künstlich hergestellten Gemischen von Aminosäuren war es nicht möglich, dieselben in besserer Ausbeute wiederzuerhalten. Die Verluste betreffen alle Aminosäuren ziemlich gleichmäßig. Schließlich ist die Ergänzung obiger Methoden durch das von VAN SLYKE (2) ausgearbeitete Verfahren zu erwähnen, welches die bereits lange bekannte Reaktion von Aminogruppen mit HNO_2 unter Bildung von freiem N wieder in Aufnahme brachte. Wenn man dafür Sorge trägt, daß das aus der salpetrigen Säure entstehende Stickoxyd durch alkalische Permanganatlösung rasch wegoxydiert wird, so kann man den N_2 in Gasform bequem auffangen und aus seinem Volum einen Rückschluß auf die zerstörten NH_2-Gruppen ziehen. In Kombination mit der obenangeführten HAUSMANNschen N-Fraktionierung gewinnt man so rasch eine Orientierung über die quantitativen Verhältnisse der N-Bindung in Eiweißstoffen, mit dem Vorteile, daß nur kleine Materialmengen für diese Analyse nötig sind.

Obwohl manche methodische Schwierigkeiten bestehen und außer den erwähnten Verlusten bei der Estermethode insbesondere auch die Aufschließung des Phosphorwolframsäureniederschlages ein erschwerendes Moment bildet, so hat man dennoch an der Hand dieser Hilfsmittel überraschend erfolgreiche Studien über die Verschiedenheiten im Aufbau der einzelnen Eiweißklassen erhalten. So zeigen in den Analysen von OSBORNE die in dieselbe Gruppe gehörenden und einander sehr ähnlichen Reserveproteide aus Samen unzweideutig verschiedenen Gehalt an Diamino-N; für die alkohollöslichen Samenproteide ist der hohe Gehalt an Amido-N charakteristisch usw. PICK hat die Proteosen mit Erfolg hinsichtlich der Unterschiede der N-Fraktionen untersucht.

Über die Verteilung des Eiweiß-N auf die Bindungsformen als Amid-N, Monamino-N und Diamino-N bei verschiedenen pflanzlichen und tierischen Proteinstoffen orientiert die nachfolgende Tabelle.

	In Prozenten des Gesamt-N			
	Amid-N	Monamino-N	Diamino-N	
Coniferensameneiweiß	10,3	56,9	32,8	E. SCHULZE
Zein aus Mais	21,1			HENDERSON
Edestin aus Hanf	10,25	54,99	38,15	HAUSMANN
Casein	13,37	75,98	11,71	HAUSMANN
Ovalbumin krystall.	8,53	67,80	21,33	HAUSMANN
Histon	—	38,40	40,50	KOSSEL
Leim	1,61	62,56	35,83	HAUSMANN
Heteroproteose	6,45	57,40	38,93	PICK
Protalbumose (beide aus Wittepepton)	7,14	68,17	25,42	PICK

1) TH. OSBORNE u. D. BR. JONES, Amer. Journ. Physiol., *26*, 212 (1910). Ebenda, p. 305. N. ZELINSKY, Ztsch. physiol. Chem., *73*, 459 (1911). ABDERHALDEN u. A. WEIL, Ebenda, *74*, 445 (1911); *76*, 59 (1912); *77*, 285 (1912). LEVENE u. VAN SLYKE, Biochem. Ztsch., *10*, 214 (1908). E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *39*, 530 (1906). C. PAAL u. WEIDENKAFF, Ebenda, p. 810; ABDERHALDEN u. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 226 (1912). F. W. FOREMAN, Journ. Agr. Soc., *4*, 430 (1912). — 2) D. VAN SLYKE, Journ. of. biol. Chem., *10*, 15 (1911); *9*, 185 (1911); *12*, 275

Osborne gab folgende Werte in Prozenten der Eiweißtrockensubstanz an (1):

	Amid-N	Monamino-N	Diamino-N	Gesamt-N
Weizenglobulin	1,42	9,82	6,83	18,39
Edestin aus Hanf	1,88	10,78	5,91	18,64
Gossypiumglobulin	1,92	11,01	5,71	18,64
Conglutin aus Lupine	2,65	10,30	5,13	18,21
Zein aus Mais	2,97	12,51	0,49	16,13
Casein aus Kuhmilch	1,61	10,31	3,49	15,62
Excelsin von Bertholletia	1,48	10,97	5,76	18,30
Legumin	1,69	10,92	5,18	17,97
Leucosin aus Weizen	1,16	11,83	3,50	16,93
Glutenin von Weizen	3,30	11,95	2,05	17,49
Gliadinin	4,20	12,41	0,98	17,66

Die von van Slyke vorgeschlagene Analyse (2) beseitigt zunächst durch Destillation unter vermindertem Drucke bei gewöhnlicher Temperatur alles freie Ammoniak, welches die Säurehydrolyse geliefert hat. Nach Osborne (3) entspricht dieser Amidstickstoff meist dem der beiden Dicarbonsäuren, Glutaminsäure und Asparaginsäure, so daß es wahrscheinlich ist, daß diese beiden Aminosäurereste als Säureamidgruppen vorliegen, Glutamin und Asparagin. Man würde demnach schon daraus einen Rückschluß auf den Gehalt an diesen Aminosäuregruppen ziehen können. Der zur Austreibung des Ammoniaks zugesetzte Kalk adsorbiert alle schwarz gefärbten Reaktionsprodukte, die man als „Melanine" zusammenfaßt (4). Ihr nach Kjeldahl bestimmter N wird als Melanin-N in Rechnung gestellt. Nun fällt man das Filtrat vom melaninhaltigen Kalk mit Phosphorwolframsäure und schließt diesen Niederschlag in gewohnter Weise mit Baryt auf. Darin ist Cystin, auf dessen Quantität man durch eine Schwefelbestimmung schließen kann, enthalten, sodann die drei Diaminosäuren Arginin, Lysin und Histidin. Ein Schluß auf die vorhandene Argininmenge läßt sich auf Grund der Tatsache ziehen, daß es mit verdünntem Alkali erhitzt die Hälfte seines N als NH_3 abgibt (5). Da nun vom Stickstoff des Histidin $^2/_3$ und vom Argininstickstoff $^1/_4$ nicht mit HNO_2 reagiert, so kann man, wenn man den Gesamt-N der Phosphorwolframfraktion kennt, den Histidin-N dadurch berechnen, daß man vom Gesamt-N-Gehalte der Fraktion $^3/_4$ des Arginin-N

---

u. 295 (1912); Ber. chem. Ges., *44*, 1690 (1911). Van Slyke u. F. J. Birchard, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *9*, 113 (1913). Van Slyke, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *5*, 995 u. 1011 (1912); *6*, 278 (1912); H. Bierry, Soc. Biol., *75*, 129 (1913). Mikromethode: Van Slyke, Journ. Biol. Chem., *23*, 407, 411; *22*, 281 (1915). — Hart u. Sure, Ebenda, *28*, 241 (1916); *31*, 527. Michell u. Eckstein, Ebenda, *33*, 373 (1918). Slyke, Ebenda, *16*, 121, 125, 187, 531, 539 (1914); Rosenberg, Biochem. Ztsch., *62*, 157 (1914); Andersen u. Roed-Müller, Ebenda, *73*, 326 (1916). Brewster u. Alsberg, Proc. Soc. Exp. Biol., *12*, 192 (1915).

1) Th. B. Osborne u. J. F. Harris, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 323 (1903). — 2) Siehe auch die vergleichenden Untersuchungen mit Slykes Methode und Formoltitrierung bei F. C. Cook, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 1551 (1914). — 3) Th. B. Osborne, Leavenworth u. Brautlecht, Amer. Journ. of Physiol., *23*, 180 (1908). — 4) Die Entstehung dieser melanin- oder huminartigen Körper muß wohl auf Rk. zwischen Aldehyden, die aus Aminosäuren entstehen und Kohlehydratgruppen zurückgeführt werden. Vgl. Gortner, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1630 (1915); Journ. Biol. Chem., *26*, 177 (1916); Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 2477 (1917); Roxas, Journ. Biol. Chem., *27*, 71 (1916). Nach Clementi, Arch. di Farm., *20*, 561 (1915) kann man die Melanine ohne Verlust an Monamino-N mit kolloidalem Eisenhydroxyd ausflocken. — 5) Vgl. A. Kossel u. N. Gawrilow, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 274 (1912).

subtrahiert und die Differenz mit $^3/_2$ multipliziert. Diese indirekte Methode lieferte immerhin Werte, welche nur bis 1% Abweichungen von der Theorie zeigten. Den Lysin-N rechnet man aus der Differenz des Gesamt-N der Fraktion und dem N-Gehalt der drei anderen Aminoderivate. Schließlich läßt sich die nicht mit Phosphorwolframsäure fällbare Fraktion mittels der HNO_2-Methode in zwei Teile trennen, von denen der eine alle Aminosäuren aufweist, welche nur Amino-N enthalten: Glutaminsäure, Asparaginsäure, Tyrosin, Phenylalanin, Serin, Leucin, Isoleucin, Valin, Alanin und Glykokoll, die andere das Prolin, Oxyprolin und Tryptophan enthält, die wie die beiden ersten Säuren entweder nur Nichtamino-N enthalten, oder den halben N als Nichtamino-N wie das Tryptophan. Diese Analysen lieferten VAN SLYKE Zahlen für die Verteilung des Eiweiß-N, die in ihrer Summe nur äußerst wenig von 100% abwichen. Als Beispiele seien folgende Analysen angeführt.

	Ammon. N	Melanin N	Cystin N	Arginin N	Histidin N	Lysin N	Amino-N im Filtrat	Nichtamino-N d. Filtrates
Gliadin (Triticum) .	25,52	0,86	1,25	5,71	5,20	0,75	51,98	8,50
Edestin (Cannabis) .	9,99	1,98	1,49	27,05	5,75	3,86	47,55	1,7
Keratin (Hundehaar)	10,05	7,42	6,60	15,33	3,48	5,37	47,50	3,1
Glutin	2,25	0,07	0,0	14,70	4,48	6,32	56,3	14,9
Fibrin	8,32	3,17	0,99	13,86	4,83	11,51	54,2	2,7
Hämoglobin . . .	5,24	3,60	0,0	7,70	12,7	10,9	57,0	2,9

Auf die Ergebnisse der FISCHERschen Estermethode, die es gestattete, auch den Amino-N des Filtrates vom Phosphorwolframniederschlage erschöpfend zu fraktionieren, wird eingehend weiter unten zurückzukommen sein.

Zunächst eine Übersicht über die bisher erhaltenen einzelnen Produkte der totalen Eiweißhydrolyse.

A. Stoffe, welche bei der Säurehydrolyse des Eiweiß Ammoniakstickstoff liefern.

Wie aus den oben mitgeteilten Zahlen hervorgeht, wird nur ein relativ geringer Anteil vom Gesamt-Eiweiß-N als NH_3 beim Kochen mit Säure ohne weiteres abgespalten (1). A priori ist es möglich, daß NH_3 direkt vorgebildet ist, daß es sich um leicht verseifbaren Säureamid-N, wie im Asparagin und Glutamin in der Form $R \cdot CO \cdot NH_2$, eventuell der tautomeren (2) Form $R \cdot C\langle^{NH}_{OH}$, oder um Imid-N, eventuell um Nitril-N handelt, welche letzteren gleichfalls beim Kochen mit Säure zu Ammoniaksalzen verseift werden müssen. Von allen diesen Eventualitäten kommt nur die Präexistenz von Säureamidgruppen ernstlich in Betracht, und es ist sogar wahrscheinlich, daß nur die, auch bei der fermentativen Hydrolyse zu erhaltenden, Gruppen des Asparagin und Glutamin den Amido-N liefern, zumal die quantitativen Ergebnisse mit dieser Ansicht übereinstimmen.

Schon NASSE (3) fand, daß die bei der Säurehydrolyse entwickelte NH_3-Menge bei den einzelnen Eiweißstoffen differiert. Bei Barythydratspaltung wird erheblich mehr Ammoniak gebildet. Auch tryptische Eiweiß-

1) Vgl. F. MÜLLER, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 286 (1902). WINKLER, Ztsch. analyt. Chem., *61*, 290 (1902). ROTHERA, l. c. SKRAUP, Monatsh. Chem., *29*, 255 (1908); GAILLOT, Ann. Sci. Agron. franç., *30*, 116 (1913). — 2) Vgl. ESCHWEILER, Ber. chem. Ges., *30*, 998 (1897); HANTZSCH u. VOEGELEN, Ebenda, *34*, 3142 (1901). — 3) NASSE, Pflüg. Arch., *6*, 589 (1872); *7*, 139 (1872); *8*, 381 (1874). E. SCHULZE, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, 61 (1902). Zur Ammoniakbestimmung: DILLINGHAM, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 1310. Bindung des NH_3 im Eiweiß: A. C. ANDERSEN u. ROED-MÜLLER, Biochem. Ztsch., *70*, 442 (1915).

hydrolyse spaltet NH_3 ab, doch nach DZIERZGOWSKI und SALASKIN (1) erheblich weniger als bei der Säurehydrolyse. Das bei bacteriellen Eiweißspaltungen auftretende Ammoniak ist nur teilweise durch das Bacterientrypsin entbunden. Die bei der Eiweißfäulnis entstehenden Amine Methyl-, Dimethyl- und Trimethylamin, sind hinsichtlich ihrer Entstehung noch nicht ganz geklärt (2). Das Trimethylamin dürfte wohl dem Cholin resp. den Lecithiden der Gewebe entstammen und mit den Proteinstoffen nichts zu tun haben.

B. Stoffe, welche bei der Säurehydrolyse des Eiweiß Monaminostickstoff liefern.

Die oben gegebenen Zahlen zeigen, daß der größte Teil der N-hältigen Gruppen des Eiweißmolekels hierher gehört. Die Analyse dieser Fraktion setzt infolge ihrer äußerst komplizierten Zusammensetzung die größten Schwierigkeiten entgegen, und die früheren Methoden, die sich zur Trennung der einzelnen Monaminosäuren verschiedener Metallsalze bedienten (3), konnten nur teilweise befriedigende Ergebnisse erzielen. Es blieb immer Raum für die Vermutung, daß ein erheblicher Teil der hier vereinigten Stoffe noch unbekannt sei. Erst die Estermethode nach FISCHER schuf eine klarere Sachlage und erlaubte trotz relativ großer Verluste einen viel besseren Einblick, nachdem sich die Verluste anscheinend gleichmäßig auf alle vorhandenen Hydrolysenprodukte verteilen. Man nimmt gegenwärtig vielfach an, daß bis auf vereinzelte Ausnahmen, die in sehr geringer Menge vorkommende Aminosäuren betreffen, wahrscheinlich alle Bausteine des Eiweißmolekels bereits bekannt seien.

Die Monaminosäuren der Eiweißhydrolyse sind sämtlich α-Aminosäuren, was für die Eiweißkonstitution, wie wir später auszuführen haben werden, von größter Bedeutung ist. Andere Aminosäuren, wie die β-Aminosäuren (4), haben keine physiologische Bedeutung und sind interessanterweise auch für die Stickstoffernährung von ganz untergeordneter Bedeutung Die Eigenschaften der Aminosäuren lassen teils auf das Nebeneinanderbestehen einer freien COOH-Gruppe und einer NH_2-Gruppe schließen, teils auf eine betainartige Konstitution, die durch das Schema

$$\begin{matrix} R\cdot CH \\ \cdot \\ COO \end{matrix} \!\!\!\!> NH_3$$

anzudeuten ist (5). Sie sind nur geringfügig in ihren Lösungen elektrolytisch dissociiert und gehören zu den amphoteren Elektrolyten nach BREDIG. Bei der Eiweißhydrolyse erhält man ausschließlich optisch aktive Modi-

1) DZIERŻGOWSKI u. SALASKIN, Zentr. Physiol. (1901), p. 249. HIRSCHLER, Ztsch. physiol. Chem., *10*, 302 (1886). STADELMANN, Ztsch. Biol., *24*, 261 (1888). KUTSCHER, Die Endprodukte d. Trypsinverdauung (1899). — 2) Methylamin: MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 514 (1897). — 3) Vgl. die zahlreichen Arbeiten von E. SCHULZE. Nickelsalze, verwendet von ORLOW, Pharm. Ztg. f. Rußland, *36*, 285 u. 301 (1895); Silbersalze von KUTSCHER, Sitz.ber. Berliner Akad., *26*, 588 (1902). Cu- und Ni-Salze: G. BRUNI u. C. FORNARA, Atti Acc. Linc. (5), *13*, 26 (1904). Bleisalze: LEVENE u. VAN SLYKE, Journ Biol. Chem., *8*, 285 (1910); Mercuriacetat in schwach sodahaltiger Lös.g als Fäll.mittel: C. NEUBERG u. KERB, Biochem. Ztsch., *40*, 498 (1912). — 4) β-Aminosäuren: TH. POSNER, Ber. chem. Ges., *38*, 2316 (1905); Verh. Nat.forsch. Ges. (1905), II, *1*, 70. — 5) Vgl. SAKURAI, Chem. News, *69*, 237 (1894); *73*, 106 (1895). WALKER, Ebenda, p. 238. H. LEY u. M. URICH, Ber. chem. Ges., *42*, 3440 (1909). Affinitätskonstanten: R. WEGSCHEIDER, Monatsh. Chem., *26*, 1265 (1905). GEAKE u. NIERENSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 149 (1914). R. ENGELAND, Ztsch. Biolog., *63*, 470 (1914). Struktur von Aminosäuren: H. J. BACKER, Chem. Weekbl., *12*, 943 (1915).

fikationen jener Aminosäuren, welche ein asymmetrisches C-Atom besitzen. Erst sekundär kann Racemisierung bei der Hydrolyse erfolgen. Synthetisch erhält man in der Regel erst die racemischen Produkte (1). Nach dem Vorgange FISCHERS läßt sich die WALDENsche Umlagerung in den meisten Fällen direkt benutzen, um über die Bromfettsäuren von einer der optisch aktiven Modifikationen zu dem Antipoden zu gelangen, und es sind auf diesem Wege nach und nach alle natürlich vorkommenden Aminosäuren der Synthese zugänglich geworden (2). Aus den racemischen Säuren stellt man nach FISCHER (3) die beiden optisch-aktiven Modifikationen mit Hilfe der Überführung in den Benzoylester und Herstellung der Brucinsalze dar.

Wie CURTIUS (4) zuerst zeigte, entsteht beim Stehen von Glykokollesterlösung bei Zimmertemperatur aus dem Glykokoll eine eigentümliche cyclische Verbindung der Form $CH_2 \cdot CO \cdot NH$
$NH \cdot CO \cdot CH_2$, das Glycinanhydrid oder Diketopiperazin. Die analoge Verbindung aus Alanin ist das schon länger bekannte Lactimid $CH_3 \cdot CH \cdot NH \cdot CO$
$CO \cdot NH \cdot CH \cdot CH_3$. Die zum Glycinanhydrid zugehörige komplexe Aminosäure, das Glycylglycin $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2 \cdot COOH$, welche E. FISCHER (5) zuerst kennen gelehrt hat, ist der einfachste Repräsentant der sogenannten Polypeptide.

Zur Abscheidung von Aminosäuren ist außer den Metallverbindungen (6) die von E. FISCHER (7) eingeführte Herstellung der β-Naphthalinsulfo- und Toluolsulfoderivate von Bedeutung. NEUBERG (8) empfahl zur Charakterisierung der Aminosäuren die Bereitung der Verbindungen mit α-Naphthyl-Isocyanat. Anwendung finden sodann die Verbindungen mit Pikrinsäure und Pikrolonsäure (9). DAKIN (10) konnte mittels Butylalkoholextraktion die Monaminosäuren von den Diamino- und Dicarbonsäuren vorteilhaft trennen und sah die Schwierigkeiten der Reindarstellung einzelner Säuren dann vermindert. Von Interesse ist sodann die Bildung von Carbamino-

---

1) Spaltung raemischer Aminosäuren: A. COLOMBANO u. SANNA, Atti Acc. Linc. Roma (5), *22*, II, 234 u. 292 (1913). — 2) Synthese: E. FISCHER u. W. SCHMITZ, Ber. chem. Ges., *39*, 351 (1906). KNOOP u. HOESSLI, Ebenda, *39*, 1477 (1906); ZELINSKY u. STADNIKOFF, Ebenda, p. 1722 (1906). SÖRENSEN u. HÖYRUP, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 44 (1911); *46*, 448 (1905); Compt. rend. Carlsberg, *6*, (1905). NEUBERG, Biochem. Ztsch., *1*, 282 (1906). — 3) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *32*, 2451 (1899); ebenda 3638; *33*, 2370 u. 2383 (1900), COLOMBANO, SANNA u. DELITALA, Gazz. chim. ital., *44*, I, 91 (1914); PELLINI u. COPPOLA, Acc. Linc. (5), *23*, I, 144 (1914); Einflüsse auf opt. Akt.: J. K. WOOD, Journ. Chem. Soc., *105*, 1988 (1914). — 4) TH. CURTIUS u. F. GÖBEL, Journ. prakt. Chem., *37*, 150 (1888). CURTIUS u. H. SCHULZ, Ber. chem. Ges., *23*, 3041 (1890). — Über Anhydride und Amide der α-Aminosäuren vgl. GRAZIANI, Atti Acc. Linc. (5), *24*, 822 u. 936 (1915). — 5) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *34*, 2868 (1901); *35*, 1095 (1902). — 6) Fällung mit Mercuriacetat und Soda: C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *67*, 119 (1914); Kupfer: KOBER, Journ. Ind. and. Eng. Chem., *9*, 501 (1917). — 7) E. FISCHER u. BERGELL, Ber. chem. Ges., *35*, 3779 (1902); G. FOSSNER, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 15 (1906). E. KOENIGS u. MYLO, Ber. chem. Ges., *41*, 4427 (1908). BERGELL, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 465 (1914); W. LÖB, Chem.-Ztg., *39*, 369 (1915). Nitrotoluolsulfonsäurederivate: M. SIEGFRIED, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 68. Dinitrochlorbenzolverbindungen: ABDERHALDEN u. BLUMBERG, Ebenda, *65*, 318 (1910). Phthalylderivate: S. GABRIEL, Ber. chem. Ges., *41*, 242 (1908). — 8) C. NEUBERG u. E. ROSENBERG, Biochem. Ztsch., *5*, 456 (1907). NEUBERG u. MANASSE, Ber. chem. Ges., *38*, 2359 (1905). — Ureide: A. MOREL, Compt. rend., *143*, 119 (1906). FR. LIPPICH, Ber. chem. Ges., *41*, 2953 u. 2974 (1908). — 9) Pikrylverbindungen: K. HIRAYAMA, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 290 (1909). Pikrolonsäureverbindungen: LEVENE u. VAN SLYKE, Journ. Biol. Chem., *12*, 127 (1912). — 10) H. D. DAKIN, Biochem. Journ., *12*, 290 (1918).

säuren bei der Einwirkung freier CO_2 auf Aminosäuren, die SIEGFRIED (1) studierte, sodann die Verbindungen mit Ammoniak, die BERGELL (2) als Diaminoacylimide charakterisierte. ABDERHALDEN (3) lehrte die Glycerinverbindungen, sowie die Verbindungen von Aminosäuren mit Fettsäureresten und mit Cholesterin (4) näher kennen. Zur Abscheidung der Aminosäuren aus Lösungen benutzte PFEIFFER (5) Neutralsalze. Bei dieser Löslichkeitsbeeinflussung wurden Molekülverbindungen angenommen („Amphisalze"). Das Studium der Oxydations- und Reduktionserscheinungen bei Aminosäuren hat zu bemerkenswerten Beziehungen zu den Fettsäurealdehyden geführt. So kam DAKIN (6) bei Behandlung der Monaminosäuren mit H_2O_2 und Eisensalz zu den nächst niedrigeren Aldehyden neben Abspaltung von NH_3 und Ameisensäure, welche zu CO_2 weiter oxydiert wird. Bei der Reduktion erhält man die entsprechenden Aminoaldehyde (7).

Wie RUHEMANN (8) fand, geben die Aminosäuren, wie die von ihnen abstammenden Polypeptide, Peptone und Eiweißkörper eine schöne blaue Reaktion mit Triketohydrindenhydrat $C_6H_4<(CO)_2>C(OH)_2$, welche man auch mikrochemisch nach ABDERHALDEN gut benutzen kann. Eine colorimetrische Bestimmung des α-Amino-N läßt sich ebenfalls darauf begründen (9). Eine weitere Farbenreaktion ist die von CHODAT (10) beschriebene Probe mit Tyrosinase und p-Kresol, welche mit Aminosäuren, Peptonen und Eiweiß in verschiedener blauer und violetter Nuance erscheint. Zur mikrochemischen Aufsuchung von Aminosäuren leistet nach KOBER (11) übrigens auch die Vermehrung des Lösungsvermögens für alkalische Kupferlösung gute Dienste. Spektrographisch wurden die Aminosäuren durch KOBER (12) geprüft. Im Ultraviolett zeigen aromatische Aminosäuren charakteristische Bander. Von den einzelnen Monaminosäuren kennt man bisher die folgenden als Produkte der Eiweißhydrolyse.

1. Das Glykokoll, zuerst 1820 durch BRACONNOT (13) bei der Säurehydrolyse von Leim entdeckt, 1848 von LAURENT (14) als Aminoessigsäure erkannt. Als Spaltungsprodukt der von LIEBIG (15) 1829 dargestellten Hippursäure konstatierte es zuerst DESSAIGNES (16), wodurch die Konstitution der Hippursäure als Benzoylaminoessigsäure aufgeklärt wurde.

---

1) M. SIEGFRIED, Ztsch. physiol Chem., *46*, 85 u. 401 (1905); *54*, 423 (1908) u. 437; *81*, 260 (1912). Ber. chem. Ges., *39*, 397 (1906). Ergebn. d. Physiol., *9*, 334 (1910). — 2) P. BERGELL, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 207 (1907); *54*, 258 (1908); *55*, 173 (1908); *64*, 348 (1910); *65*, 489 (1910); *67*, 97 (1910); *76*, 464 (1912); *97*, 293 (1916); *99*, 150 (1917). — 3) ABDERHALDEN u. M. GUGGENHEIM, Ebenda, *65*, 53 (1910); *72*, 50 (1911). — 4) ABDERHALDEN, Ebenda, *65*, 61 u. 69 (1910). S. BONDI, Biochem. Ztsch., *17*, 543 u. 553 (1909); *23*, 499 u. 510 (1910). Oxalylverbindungen: MEIJERINGH, Rec. trav. chim. Pays Bas, *32*, 140 (1913). — 5) P. PFEIFFER u. WITTKA, Ber. chem. Ges., *48*, 1041, 1289, 1938 (1915); Ztsch. Physiol. Chem., *97*, 128 (1916); EULER, Ebenda 291. — 6) H. D. DAKIN, Journ. Biol. Chem., *1*, 171 (1906). C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *20*, 531 (1909). Auch Oxydation mit Chloramin hat ähnliche Ergebnisse: H. D. DAKIN, Biochem. Journ., *11*, 79 (1917). — 7) C. NEUBERG u. KANSKY, Biochem. Ztsch., *20*, 450 (1909); Ber. chem. Ges., *41*, 956. E. FISCHER, Ebenda, 1019 (1908). LANGHELD, Ebenda, *42*, 392 (1909) u. 2360. — 8) S. RUHEMANN, Journ. Chem. Soc., *97*, 1438 u. 2025 (1910). ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *72*, 37 (1911). Über mögliche Täuschungen durch andere Aminoderivate vgl. C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *56*, 500 (1913). — 9) V. J. HARDING u. MAC LEAN, Journ. Biol. Chem., *20*, 217 (1915). BOLLAND u. NOBEL, Chem.-Ztg., *39*, 727 (1915). — 10) R. CHODAT, Arch. Sci. Phys. et Nat. Genève (4), *33*, 70 u. 225 (1912). — 11) PH. A. KOBER u. SUGIURA, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1546 (1913). — 12) KOBER, Journ. Biol. Chem., *22*, 433 (1915). — 13) H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *13*, 113 (1820). — 14) A. LAURENT, Ebenda, (3), *23*, 110 (1848). — 15) LIEBIG, Pogg. Ann., *17*, 389 (1829). Ann. Chim. et Phys. (2), *43*, 188 (1830). — 16) DESSAIGNES, Ann. Chim et Phys., (3), *17*, 50 (1846).

Durch Benzoylierung ist Hippursäure aus Glykokoll leicht zu erhalten (**1**). Man hat diese Überführung in Hippursäure zur quantitativen Glykokollbestimmung herangezogen (**2**); E. FISCHER (**3**) hat durch die Krystallisation des salzsauren Glykokolläthylesters befriedigende Resultate erzielt, indem derselbe in Alkohol schwer löslich ist. Die Aminoessigsäure ließ sich auch als β-Naphthylsulfosaures Salz (**4**), als Pikrinsäure- (**5**) und Pikrolonsäureverbindung (**6**) isolieren. Die allermeisten Eiweißkörper liefern zur Bestimmung hinreichende Glykokollmengen bei der Hydrolyse, doch fand OSBORNE in einer Reihe von Samen-Reserveproteinen wie Gliadin, Hordein, Zein, Vicilin und Vignin kein Glykokoll auf, und andere lieferten nur sehr wenig (**7**). Gegen 4%, wie aus Edestin, erhält man bei pflanzlichen Proteinen nur ausnahmsweise. Casein aus Kuhmilch ergibt gleichfalls nur wenig Glykokoll, während Gelatine gegen 8,5% liefert (**8**). SPIRO fand es als Spaltungsprodukt der Heterofibrinose, nicht aber der Protalbumose. Nach LEVENE (**9**) ist aus Leim ein Glycinprolin bei der tryptischen Verdauung zu erhalten. Synthetisch stellte NENCKI (**10**) die Aminoessigsäure aus Chloressigsäure und Ammoniumcarbonat her. WATKINS (**11**) beobachtete beim Kochen von Glykokoll mit Chloralhydrat eine dunkelrote Farbenreaktion.

2. Die α-Aminopropionsäure oder das Alanin ist, wie wir heute wissen, ein bei der Proteinhydrolyse regelmäßig zu erhaltendes Produkt (**12**). Es ist auch bei der Alkali(Baryt)hydrolyse von Eiweiß nachgewiesen. Sein Äthylester geht bei 10—15 mm Druck zwischen 55° und 80° über. Es handelt sich um das der d-Milchsäure entsprechende optisch-aktive Alanin, d-Alanin (**13**). OSBORNE erhielt bei differenten Samenproteinen bis zu 4,5% Ausbeute an Alanin.

3. Phenylalanin. Das β-Phenylderivat der α-Aminopropionsäure wurde schon vor längerer Zeit von SCHULZE (**14**) als Produkt der Säurehydrolyse von Cucurbitasamenproteid aufgefunden; nach unseren Kenntnissen ist es ein regelmäßig etwa in derselben Menge wie Alanin aus allen untersuchten Proteinen zu erhaltendes Produkt. Es handelt sich um die l-Modifikation, dieselbe, die auch in Keimlingen gefunden wird. Nicht zu verdünnte Lösungen von Phenylalanin sind durch Phosphorwolframsäure gut fällbar, jedoch nicht, wenn in verdünnteren Lösungen andere Amino-

---

1) BAUM, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 465 (1885). SPIRO, Ebenda, *28*, 174 (1899). GONNERMANN, Pflüg. Arch., *59*, 42 (1894). — **2**) CH. S. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *19*, 164 (1894). — **3**) E. FISCHER, Ebenda, *35*, 229 (1902). — **4**) ABDERHALDEN u. M. GUGGENHEIM, Ebenda, *59*, 29 (1909). — **5**) LEVENE, Journ. Biol. Chem., *1*, 413 (1907); *12*, 285 (1912). — **6**) ABDERHALDEN u. A. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 150 (1912). — **7**) ZD. H. SKRAUP, Monatsh. Chem., *26*, 1343 (1905). Vgl. auch DUBROWIN, Biochem. Zentr. (1903), Ref. Nr. 357. — **8**) SKRAUP, Monatsh. Chem. *26*, p. 1351 (1905). — **9**) LEVENE, Journ. exp. Med., *8*, 180, 461 (1906). — **10**) NENCKI, Ber. chem. Ges., *16*, 2827 (1883). Darstellung: DRUSHEL u. KNAPP, SILLIMAN, Journ. Sci. (4), *40*, 509 (1915). Krystallformen: FALK u. SUGIURA, Journ. Biol. Chem., *34*, 29 (1918). — **11**) E. D. WATKINS, Biochem. Bull., *3*, 26 (1913). — Hg-Verbindung: BERNARDI, Gazz. chim. ital., *44*, II, 257 (1914); Cu-Verbindung: J. VILLE, Bull. Soc. Chim (4), *17*, 315 (1915); Formaldehyd: H. KRAUSE, Ber. chem. Ges., *51*, 136 (1918), Methylenblaureduktion: F. HASSE, Biochem. Ztsch., *98*, 159 (1919). — **12**) E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *36*, 271 (1902). Legumin: BLEUNARD, Compt. rend., *90*, 1080 (1880). FLEURENT, Ebenda, *121*, 216 (1895). Casein: SKRAUP, Monatsh. Chem., *26*, 1343 (1905). Gelatine: SKRAUP, Ebenda, p. 1351. Trennung von Valin: LEVENE u. SLYKE, Journ. Biol. Chem., *16*, 103 (1913). — **13**) Synthese: ZELINSKY u. STADNIKOFF, Ber. chem. Ges., *41*, 2061 (1908); Aufspaltung des racem. Alanin: COLOMBANO u. SANNA, Atti Acc. Linc. Roma (5), *22*, II, 292 (1913). Reines d-Alanin: E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *39*, 462 (1906). Oxydation: W. DENIS, Journ. Biol. Chem., *10*, 73 (1911); Pikrolonsäureverbindung: ABDERHALDEN, vgl. Anm. 6. — **14**) E. SCHULZE u. BARBIERI, Ber. chem. Ges., *14*, 1785 (1881); *16*, 1711 (1883). Ztsch. physiol. Chem., *8*, 63 (1884); *9*, 72 (1884).

säuren, Leucin, Valin zugegen sind (1). Der Phenylalaninäthylester geht nach FISCHER unter 10 mm Druck bei 100—130° über. Man isoliert es am besten durch Verseifung seines Esters. Vom Phenylalanin hat CHELLE eine orangegelbe Farbenreaktion mit Formol-H_2SO_4 angegeben (2).

Vom Phenylalanin leiten sich einige bemerkenswerte Produkte der Eiweißfäulnis ab, nämlich die Hydrozimtsäure oder Phenylpropionsäure (SALKOWSKI) (3) und die Phenylessigsäure, sowie das Phenyläthylamin (NENCKI) (4) (5), vielleicht auch der von OSSIKOVSZKY (6) bei der Fibrin-Pankreasverdauung gefundene Zimtaldehyd.

4. Das Tyrosin, das p-Oxyderivat des Phenylalanins, ist eine der am leichtesten nachweisbaren Substanzen aus der Reihe der gewöhnlich vorkommenden Produkte der Eiweißhydrolyse. Es ist durch seine Schwerlöslichkeit in Wasser, die Löslichkeit in ammoniakalischem Alkohol, die charakteristischen Farbenreaktionen und seine leicht kenntlichen Krystallformen in der Regel auch in geringen Mengen gut nachzuweisen. LIEBIG (7) isolierte es 1846 zuerst aus Käse, HINTERBERGER (8) hierauf aus den Eiweißspaltungsprodukten. Die aus Samenproteinen zu gewinnenden Tyrosinmengen betragen meist zwischen 1—3% (9). Casein aus Milch liefert über 4%, und aus Seidenfibroin vermag man, wie ABDERHALDEN (10) fand, über 10% an Tyrosin darzustellen. Aus Leim erhält man gar kein Tyrosin. Ähnliche Ausbeuten ergeben sich bei der Barytwasserhydrolyse sowie bei der tryptischen Verdauung, wo schon im Beginne der Reaktion alles Tyrosin abgespalten wird (11). Bei der Baryt-Eiweißspaltung erhielten SCHULZE und BOSSHARD (12) nur raçemisiertes Tyrosin. Das im Eiweiß vorgebildete Tyrosin ist das dem l-Phenylalanin entsprechende l-Tyrosin (13). Ausgehend von der Synthese des Benzoyltyrosin nach ERLENMEYER und HALSEY (14) gewann E. FISCHER über das racemische Tyrosin beide optischaktiven Modifikationen. So leicht rohes Tyrosin abzuscheiden ist, so schwierig ist die vollständige Reinigung desselben (15). Das reine, in garbenförmigen

1) SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ebenda, *35*, 210 (1902). — 2) L. CHELLE, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, *53*, 97 u. 101 (1913). — Zum Nachweis ferner: DUCESCHI, Hofmeist. Beitr., *1*, 339 (1902). SPIRO, Ebenda, 347. Methylderivat: E. FRIEDMANN u. S. GUTMANN, Biochem. Ztsch., *27*, 491 (1910). Synthese: T. B. JOHNSON u. W. O'BRIEN, Journ. biol. Chem., *12*, 205 (1912). Affinitätskonstanten: A. KANITZ, Pflüg. Arch., *118*, 539 (1907). — 3) E. u. H. SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *12*, 648 (1879). Ztsch. physiol. Chem., *9*, 491 (1885). — 4) NENCKI, Wien. Akad. Sitz.ber. 1889. — 5) SPIRO, Hofmeist. Beitr., *1*, 347 (1902). — 6) J. OSSIKOVSZKY, Ber. chem. Ges., *13*, 327 (1880). — 7) LIEBIG, Lieb. Ann., *57*, 127 (1846); *62*, 257 (1847). — 8) HINTERBERGER, Ebenda, *71*, 70 (1849). Lit. REACH, Virch. Arch., *158*, 288 (1899). — 9) Tyrosin aus Pflanzenprotein: E. SCHULZE, BARBIERI u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 63 (1884). RITTHAUSEN, Eiweißkörper, p. 214. A. BLEUNARD, Compt. rend., *90*, 1080. FLEURENT, Ebenda, *121*, 216 (1895). — 10) ABDERHALDEN u. TERUUCHI, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 528 (1906). — 11) A. J. BROWN u. E. TH. MILLAR, Proc. Chem. Soc., *21*, 286 (1905). — 12) E. SCHULZE u. BOSSHARD, Ber. chem. Ges., *17*, 1610 (1884). — 13) Spezif. Drehung: SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 79 (1905). — 14) E. ERLENMEYER jun. u. HALSEY, Ber. chem. Ges., *30*, 2981 (1897). Lieb. Ann., *307*, 138 (1899). Tyrosin aus Phenylalanin: ERLENMEYER u. LIPP, Ber. chem. Ges. (1882), p. 1544. E. FISCHER, Ebenda, *32*, 3638 (1899). — 15) Darstellung: ALOY u. RABAUT, Bull. Soc. Chim. (4), *3*, 391 (1908). Synthese von r-Tyrosin: STEPHEN u. WEIZMANN, Journ. Chem. Soc., *105*, 1152 (1914); o-Tyrosin: JOHNSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1846 (1915); ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 75 (1912); E. K. MARSHALL jun., Journ. biol. Chem., *15*, 85 (1913). R. H. PLIMMER, Biochem. Journ., *7*, 311 (1913). Quant. Bestimmung: O. FOLIN u. W. DENIS, Journ. of biol. Chem., *12*, 245 (1912); ebenda, p. 239; ABDERHALDEN u. D. FUCHS, Ztsch. physiol. Chem., *83*, 468 (1913); FOLIN u. DENIS, Journ. of biol. Chem., *14*, 457 (1913). PLIMMER u. LAVES, Biochem. Journ., *7*, 297 (1913). JOHNS u. BREESE, Journ. Biol. Chem., *36*, 319 (1918). Affinitätskonstanten: A. KANITZ, Pflüg. Arch., *118*, 539 (1907). Oxydation:

feinen Nadeln krystallisierende Tyrosin schmilzt bei 235°. Es gibt eine schön rote MILLONsche Reaktion, und die von LASSAIGNE und MILLON beim Eiweiß zuerst festgestellte gleiche Reaktion (1) rührt, wie NASSE (2) festgestellt hat, von den Tyrosingruppen im Eiweißmolekül her. Auch die „Xanthoproteinreaktion" verdanken die Eiweißsubstanzen ihren Tyrosingruppen (3), indem es sich um Nitrierung derselben handelt. Mit einigen Tropfen H_2SO_4 erwärmt und nach vorhergehender Neutralisation mit $Ba(OH)_2$ mit $FeCl_3$ versetzt, färben sich Tyrosinlösungen violett (PIRIA) (4). In schwefelsaurer Lösung gibt Tyrosin mit Acetaldehyd eine Rotfärbung (DENIGÈS) (5); mit H_2SO_4 und Formalin erwärmt eine schöne charakteristische Grünfärbung (MÖRNER) (6). Mit Diazobenzolsulfosäure in alkalischer Lösung gibt Tyrosin sowie Histidin (das aber keine MILLONsche Probe liefert) eine Rotfärbung. Die Lösung des Tyrosins in HCl gibt mit überschüssigem Chlorwasser und Ammoniak eine Rotfärbung (7). Dazu kommt noch die Dunkelfärbung unter der Einwirkung von Tyrosinase.

Die Homologen des Tyrosins (8) haben für die Eiweißchemie keinerlei Bedeutung. GORTNER (9) erhielt bei der Verarbeitung von Melanin aus schwarzer Schafwolle einen Stoff, der wohl MILLONS Probe gab, jedoch vom Tyrosin verschieden war. Das Gorgonin aus der Koralle Gorgonia liefert nach MÖRNER (10) bei der Hydrolyse das 3,5-Bromderivat neben dem 3,5-Jodtyrosin. Bei der fermentativen Eiweißspaltung entsteht aus Tyrosin durch CO_2-Verlust Oxyphenyläthylamin (EMERSON) (11). GUGGENHEIM (12) hatte für solche Amine, die aus Aminosäuren durch CO_2-Abspaltung hervorgehen, die allgemeine Benennung „Peptamine" vorgeschlagen. Wie BAUMANN (13) und ferner SALKOWSKI (14) nachgewiesen haben, hängt eine Reihe von Produkten der Eiweißfäulnis mit dem Tyrosin zusammen. Durch NH_3-Abspaltung entsteht daraus die p-Hydrocumarsäure oder p-Oxyphenylpropionsäure, ferner die p-Oxyphenylessigsäure, p-Kresol und schließlich Phenol (15). Da von Eiweißkohlenstoff nur etwa $^1/_{15}$ Benzolkohlenstoff ist (16), können derartige Produkte nur in geringem Umfang entstehen.

W. DENIS, Journ. Biol. Chem., *10*, 73 (1911). Tyrosinanhydrid: GRAZIANI, Atti Acc. Linc. (5), *25*, I, 509 (1916). Diazomethaneinwirk.: GEAKE u. NIERENSTEIN, Biochem. Journ., *9*, 309 (1915).

1) LASSAIGNE, Ann. Chim. et Phys. (2), *45*, 435 (1830) war der eigentliche Entdecker dieser Reaktion. E. MILLON, Ebenda (3), *29*, 507 (1850). Compt. rend., *28*, 40 (1849). — 2) O. NASSE, Sitz.ber. Halle, 31. März 1879. Pflüg. Arch., *83*, 361 (1901). Die Reaktion ist eine „Nitrosoreaktion", welche allen einfach hydroxylierten Benzolderivaten eigen ist. Vgl. auch W. VAUBEL, Ztsch. angew. Chem. (1900), p. 1125. Zur colorimetr. Tyrosinbestimmung: M. WEISS, Biochem. Ztsch., *97*, 170 (1919). — 3) Vgl. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *12*, 218 (1888). OBERMAYER, Zentr. f. Physiol., *6*, 300 (1892). Dinitrotyrosin: JOHNSON u. KOHMANN, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 2164, 1863 (1915). — 4) R. PIRIA, Lieb. Ann., *82*, 251 (1852). — 5) G. DENIGÈS, Compt. rend., *80*, 583 (1900). — 6) MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 86 (1902). — 7) ALOY u. RABAUT, Bull. Soc. Chim. (4), *3*, 391 (1908). — 8) Vgl. J. ALOY u. RABAUT, Journ. Pharm. et Chim. (7), *3*, 481 (1911). Methyltyrosin: E. FRIEDMANN u. GUTMANN, Biochem. Ztsch., *27*, 491 (1910); T. B. JOHNSON u. NICOLET, Amer. Chem. Journ., *47*, 459 (1912). Über synthetische opt.akt. Monomethyl-α-Aminosäuren: EM. FISCHER u. LIPSCHÜTZ, Ber. chem. Ges., *48*, 360 (1915). — 9) R. AI. GORTNER, Journ. Biol. Chem., *9*, 355 (1911). — 10) C. TH. MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 124 (1913). — 11) EMERSON, Hofmeist. Beitr., *1*, 501 (1902). LANGSTEIN, Ebenda, p. 507. — 12) M. GUGGENHEIM, Biochem. Ztsch., *51*, 369 (1913). — 13) E. BAUMANN, Ber. chem. Ges., *12*, 1450 (1879); *10*, 685 (1877). Ztsch. physiol. Chem., *3*, 149 (1879); *1*, 60 (1877); *4*, 304 (1880). — 14) SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *13*, 189, 2217 (1880); *12*, 1438 (1879). Ztsch. physiol. Chem., *2*, 420 (1878); *7*, 450 (1883); *10*, 150 (1886); WEYL, Ebenda, *3*, 312 (1879); ZOJA, Ebenda, *23*, 236 (1897). — 15) RHEIN, Biochem. Ztsch., *87*, 123 (1918). — 16) SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 242 (1919).

Das von GUGGENHEIM (1) aus Vicia Faba gewonnene 3,4-Dioxyphenylalanin ist bisher als Eiweißhydrolysenprodukt nicht bekannt (2).

5. Das von CRAMER (3) bei der Hydrolyse des Seidenleims entdeckte Serin ist nach FISCHER und LEUCHS (4) identisch mit α-Amino-β-Oxypropionsäure. Es wurde von FISCHER (5) als Konstituent vieler tierischer Proteine erkannt, und ist später, allerdings nur in kleiner Ausbeute, bei der Säurehydrolyse der meisten pflanzlichen Eiweißkörper erhalten worden. Der Serinäthylester destilliert bei der FISCHERschen Trennungsmethode bei 10 mm Druck zwischen 100—120° über. Am vorteilhaftesten stellt man es aus Seide dar (6). Das im Eiweiß präformierte Serin ist l-Serin und steht nach FISCHER (7) mit dem d-Alanin und mit der d-Glucose über Glycerinsäure in klarem konfigurativen Zusammenhang:

COOH	COOH	COOH
$NH_2 \cdot C \cdot H$	$NH_2 \cdot C \cdot H$	$OH \cdot C \cdot H$
CH_3	CH_2OH	CH_2OH
d-Alanin	l-Serin	Glycerinsäure

Daraus ergibt sich auch die Beziehung des im Eiweiß präformierten Phenylalanin und Tyrosin zum d-Alanin.

Wie andere Oxyaminosäuren; so entwickelt auch Serin beim Erhitzen Dämpfe, die einen mit HCl getränkten Fichtenspan rot färben.

Nach der in geringer Menge in den noch nicht hinreichend geklärten Fraktionen der Säure-Eiweißhydrolyse zu vermutenden α-Aminobuttersäure (8) wird bereits seit längerer Zeit gefahndet. Bisher liegen nur Angaben hinsichtlich tierischer Proteine vor, wo sie nachgewiesen werden konnte, in Casein und Nervenprotein (9).

6. Das Valin, wie der von FISCHER (10) eingeführte abgekürzte Name für die bei der Eiweißhydrolyse regelmäßig zu erhaltende Aminovaleriansäure lautet, ist unter den 12 theoretisch möglichen Isomeren als die α-Amino-Isovaleriansäure, und zwar in ihrer d-Modifikation erkannt worden. $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{CH_3}\!\!>\!CH \cdot CHNH_2 \cdot COOH$ (11). Aus der Barythydrolyse von Eiweiß ist diese Substanz schon seit längerer Zeit bekannt (12). Die bei den Eiweißhydrolysen gefundenen Valinmengen dürften in den meisten Fällen viel zu niedrig sein, da große Schwierigkeiten bei der Abtrennung des Valins von

---

1) GUGGENHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 276 (1913). — 2) Synthese: H. STEPHEN u. CH. WEIZMANN, Journ. Chem. Soc., *105*, 1152 (1914). — 3) CRAMER, Journ. prakt. Chem., *96*, 76 (1865). — 4) E. FISCHER u. LEUCHS, Ber. chem. Ges., *35*, 3787. ERLENMEYER, Ebenda, p. 3769. — 5) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *35*, 2660 (1902). Ztsch. physiol. Chem., *36*, 462 (1902); *42*, 543 (1904). — 6) Nachweis und Darstellung: FISCHER, Ebenda, *33*, 177 (1901); *35*, 221; *36*, 472 (1902). Ber. chem. Ges., *40*, 1501 (1907). — 7) E. FISCHER u. K. RASKE, Ebenda, p. 3717 (1907); *41*, 893 (1908). Synthese: H. LEUCHS u. GEIGER, Ebenda, *39*, 2644 (1906). Racemisches Serin: E. FISCHER u. JACOBS, Ebenda, *39*, 2942 u. *40*, 1057 (1907). Phenylserin: E. ERLENMEYER jun., Ebenda, *39*, 791 (1906). Methylisoserin: FR. W. KAY, Lieb. Ann., *362*, 325 (1908). — 8) Zur Chemie der Aminobuttersäure: ABDERHALDEN u. WURM, Ztsch. physiol. Chem., *82*, 167 (1912); Synthese: ZELINSKY u. STADNIKOFF, Ber. chem. Ges., *41*, 2061 (1908). — 9) Casein: F. W. FOREMAN, Biochem. Ztsch., *56*, 1 (1913). Nerven: ABDERHALDEN u. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 272 (1913). Für Leim vgl. E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *35*, 70 (1902). — 10) E. FISCHER, Ebenda, *39*, 2320 (1906). — 11) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *35*, 2660 (1902). Ztsch. physiol. Chem., *36*, 462 (1902); *42*, 563 (1904). — 12) SCHÜTZENBERGER, Ann. Chim. et Phys. (5), *16*, 289. BLEUNARD, Compt. rend., *90*, 1080.

den Aminocapronsäuren entgegenstehen (1). Mit Hilfe verbesserter Methoden gewannen LEVENE und VAN SLYKE (2) aus Edestin 5,6%, aus Casein 6,69% an Valin. FOREMAN (3) gewann aus der Hydrolyse von Leinsamenprotein sogar 12,7% Valin. Nach FISCHER enthält die bei 55—65° übergehende Esterfraktion Valin als Hauptbestandteil. Von Interesse ist, daß die sonst bei Aminosäuren mögliche Überführung einer optisch-aktiven Modifikation in die andere über die Bromfettsäuren (WALDENsche Umlagerung) nach FISCHER (4) beim Valin versagt, wahrscheinlich weil diese Umlagerung doppelt erfolgt.

7. Das Leucin, welches mit Tyrosin zu den am leichtesten erkennbaren Eiweißspaltungsprodukten zählt und mit diesem schon seit langem bekannt ist, wurde durch SCHULZE und LIKIERNIK (5) zuerst in seiner Konstitution als α-Amino-Isobutylessigsäure richtig bestimmt. $\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \rangle CH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$. Erst später gewann man die Sicherheit, daß dies nicht die einzige Aminocapronsäure ist, deren Kern im Eiweiß vorkommt. Es wird sich aber empfehlen, den Namen Leucin für die Amino-Isobutylessigsäure zu reservieren. Leucin ist aus sämtlichen Eiweißstoffen in allen hydrolytischen Spaltungen in nicht geringer Menge zu erhalten, und die bei pflanzlichen Proteinen erhaltenen Ausbeuten betragen nie weniger als 5% und erreichten beim Zein selbst 18%. Allerdings bleibt abzuwarten, inwieweit hier die Isomeren partizipieren, sowie welchen Anteil das Valin nimmt. BRACONNOT und PROUST stellten das Leucin zuerst dar, und LAURENT und GERHARDT bewiesen seine Natur als Aminocapronsäure. Die älteren Angaben über die quantitative Ausbeute sind infolge der schwierigen Reindarstellung alle stark übertrieben. Ein reines Präparat lieferte das von F. EHRLICH und WENDEL eingeschlagene Verfahren (6), und auch LEVENE hat bedeutende Verbesserungen angegeben. Das natürliche Leucin ist die l-Modifikation. Bei der Barythydrolyse unterläuft Racemisierung. Aus dem d, l-Leucin läßt sich nach FISCHER mittels der Formylverbindungen und Herstellung der Brucinsalze eine Trennung der beiden optisch-aktiven Formen erreichen (7). Leucin fällt beim Erkalten seiner wässerigen, heiß hergestellten Lösung zum größten Teile in Form charakteristischer kugeliger Aggregate aus. Die wässerige Lösung ist linksdrehend, saure und alkalische Lösungen drehen aber rechts (8). Reines Leucin schmilzt nach FISCHER bei 293 bis 295° (corr.). Trocken erhitzt zerfällt es in CO_2 und das charakteristisch riechende Iso-Amylamin. Die Kupferverbindung bildet schwer lösliche kugelige Nadelaggregate.

---

1) Trennung von Alanin durch die Phosphorwolframate: LEVENE u. VAN SLYKE, Journ. Biol. Chem., *16*, 103 (1913). Über d-Isovalin: GADAMER, Journ. prakt. Chem., *90*, 405 (1914). — 2) P. A. LEVENE u. D. VAN SLYKE, Journ. Biol. Chem., *6*, 391 u. 419 (1909). — 3) F. W. FOREMAN, Proceed. Cambr. Phil. Soc., *16*, 87 (1911). — 4) E. FISCHER u. H. SCHEIBLER, Ber. chem. Ges., *41*, 2891 (1908). Synthese der opt-akt. Modifikationen: ANZYGIN, Biochem. Zentr., *13*, 82 (1911). — 5) E. SCHULZE u. LIKIERNIK, Ber. chem. Ges., 24, 669; *26*, 56 (1893); Ztsch. physiol. Chem., *17*, 513 (1893). — 6) Darstellung: F. EHRLICH u. A. WENDEL, Biochem. Ztsch., *8*, 399 (1908). LEVENE u. VAN SLYKE, Journ. biol. Chem., *6*, 391 u. 419 (1909). ZD. SKRAUP, Festschrift f. Wiesner (1908), p. 477. FR. HECKEL, Monatsh. Chem., *29*, 15 (1908). SAMEC, Ebenda, p. 55. Zum Nachweise: F. LIPPICH, Ber. chem. Ges., *39*, 2953 (1906). Pikrolonsäureverbindung: ABDERHALDEN u. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 150 (1912). Isolierung als Uramidosäure: F. LIPPICH, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 145 (1914). — 7) D. MARKO, Lieb. Ann., *362*, 333 (1908). E. FISCHER u. WARBURG, Ber. chem. Ges., *38*, 3997 (1905). — 8) Opt. Aktivität: WOOD, Chem.-Ztg., *37*, 253 (1914).

Aus der Säurehydrolyse von Eiweißstoffen ist schon seit langer Zeit das Leucinimid bekannt, welches die dem Glycinanhydrid entsprechende Konstitution $CO \cdot NH \cdot CH \cdot C_4H_9$
$C_4H_9 \cdot CH \cdot NH \cdot CO$ besitzt (1). Nach FISCHER (2) empfiehlt sich das Esterverfahren auch für die Darstellung dieser Verbindung. Wahrscheinlich handelt es sich nicht um einen nativ vorgebildeten Stoff, sondern um einen beim Eingriffe der Hydrolyse aus Leucin sekundär entstehenden Körper, der durch die Verkettung zweier Leucinkerne entsteht, als ein Di-Isobutyl-Diketopiperazin: $C_{12}H_{22}N_2O_2$. SALASKIN (3) erhielt auch bei der fermentativen Eiweißspaltung Leucinimid.

8. Das von EHRLICH zuerst in der Rübenmelasse aufgefundene Isoleucin ist zweifellos ein in kleinerer Menge bei den meisten Eiweißhydrolysen zu erhaltender Körper, dessen Kern in den meisten Proteinen mit dem Leucinkern vorgebildet sein dürfte. Aus Casein gewannen LEVENE und VAN SLYKE (4) nach ihrem verbesserten Trennungsverfahren neben 7,92% Leucin 1,43% Isoleucin. Von pflanzlichen Eiweißstoffen finde ich es bisher mit Ausnahme von Hefe-Eiweiß (EHRLICH) noch nicht als Hydrolysenprodukt angeführt. Die Synthese (5) hat die Konstitution dieser Aminosäure als β-Methyläthyl--αAminopropionsäure sichergestellt: $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{C_2H_5}\rangle CH \cdot CHNH_2 \cdot COOH$, die von der Butylmalonsäure aus zugänglich ist. Vom Leucin trennt man das Isoleucin durch die verschiedene Löslichkeit der Kupfersalze in Methylalkohol ab. Das natürliche Isoleucin ist die rechtsdrehende Modifikation, also d-Methyläthyl-α-Aminopropionsäure. EHRLICH und WENDEL (6) gelang es ferner, das dem Isoleucin stereoisomere d-Allo-Isoleucin bei der Caseinhydrolyse und aus Hefe nachzuweisen.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß, sowie das Valin im Eiweiß dem Leucin entspricht, auch eine dem Isoleucin entsprechende Aminovaleriansäure, ein Isovalin der Form $\genfrac{}{}{0pt}{}{CH_3}{C_2H_5}\rangle CNH_2 \cdot COOH$ einen Kern im Eiweißmolekel bildet. EHRLICH (7) vermutet, daß diese Aminosäure wegen ihrer Leichtlöslichkeit und der sehr leichten Racemisierbarkeit bisher der Aufmerksamkeit entgangen ist.

Die bisher als Hydratationsprodukt von Eiweiß noch nicht bekannt gewesene α-Amino-n-Capronsäure hat ABDERHALDEN (8) bei der Säurespaltung des Nervenproteins erhalten. Die Aminosäure hat den Namen Norleucin zu führen. Aus pflanzlichen Proteiden kennt man sie noch nicht.

9. Die α-Pyrrolidincarbonsäure, oder nach FISCHERS Vorschlag abgekürzt als Prolin bezeichnet, wurde erst durch E. FISCHER (9) als regel-

1) Ältere Lit. bei RITTHAUSEN, Ber. chem. Ges., *29*, 2109 (1896). R. COHN, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 283 (1900). — Bei Wasserhydrolyse von Eiweiß bei hoher Temperatur: GRAVES, MARSHALL u. ECKWEILER, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 112 (1917). — 2) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *34*, 448 (1901). — 3) SALASKIN, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 592 (1901). — 4) P. A. LEVENE u. D. VAN SLYKE, Journ. biol. Chem., *6*, 391 u. 419 (1909). LEVENE u. W. A. JACOBS, Biochem. Ztsch., *9*, 231 (1908). Aus Casein: R. WEITZENBÖCK, Monatsh. Chem., *27*, 831 (1906). — 5) F. EHRLICH, Ber. chem. Ges., *41*, 1453 (1908). W. BRASCH u. E. FRIEDMANN, Hofmeist. Beitr., *11*, 376 (1908). Methyläthylpropionsäure: C. NEUBERG u. REWALD, Biochem. Ztsch., *9*, 403 (1908). — 6) F. EHRLICH u. A. WENDEL, Ebenda, *8*, 399 (1908). Über Pseudoleucin: KNOOP u. LANDMANN, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 157 (1914). — 7) EHRLICH u. WENDEL, l. c., p. 402. Vielleicht beziehen sich die Befunde von L. BOUVEAULT u. R. LOCQUIN, Compt. rend., *141*, 115 (1905); Bull. Soc. Chim. (3), *35*, 965 (1906) auf dieses Isovalin. — 8) E. ABDERHALDEN u. A. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *84*, 39 (1913); *86*, 454 (1913); *88*, 272 (1913); Darstellung: H. KUDIELKA, Monatsh. Chem., *29*, 351 (1908). — 9) E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem.,

mäßig bei der Eiweißhydrolyse nachweisbar erkannt. Sie entsteht sowohl bei der Säure- als auch bei der Alkalihydrolyse (**1**). Gelatine liefert hiervon relativ viel, nach ABDERHALDEN etwa 6% Rohpräparat. Von Pflanzenproteinen gibt OSBORNE nicht wenige Fälle an, wo noch mehr Prolin erhalten wurde, aus Hordein 13,7% (**2**). Das natürliche Prolin ist l-α-Prolin; doch wird es schon bei der Säurehydrolyse des Eiweiß teilweise racemisiert. Seine Konstitution ist

$$\left.\begin{array}{l} CH_2 \cdot CH_2 \text{———} \\ \dot{C}H_2 \cdot CH(COOH) \end{array}\right\rangle NH$$

Synthese ist mehrfach durchgeführt worden (**3**). FISCHER benutzte das Kupfersalz des Prolins zu dessen Reindarstellung. ENGELAND wies es nach Methylierung als n-Methylhygrinsäure nach (**4**). Aus Gelatine wurde ein Glycylprolin isoliert (**5**).

10. Eine Oxypyrrolidincarbonsäure wurde gleichfalls durch FISCHER (**6**) bei der Hydrolyse von Leim und Casein beobachtet. Es handelt sich um ein l-Oxyprolin, bei dem die Stellung der Hydroxylgruppe nach den Feststellungen von LEUCHS und BREWSTER als γ-Stellung einwandfrei bewiesen worden ist. Die Formel des natürlichen l-γ-Oxyprolins ist:

$$\left.\begin{array}{l} CH(OH) \cdot CH_2 \text{—} \\ \dot{C}H_2 \cdot CH(COOH) \end{array}\right\rangle NH$$

TRIER vermutet, daß noch andere ähnliche Aminosäuren der Pyrrolidingruppe bei der Hydrolyse von Eiweiß aufzufinden sein dürften (**7**).

Die Beziehungen von Prolin und Oxyprolin zu anderen Produkten der Eiweißhydrolyse sind von großem Interesse. Bei der Hydrolyse von Horn fand FISCHER (**8**) als sekundär aus Glutaminsäure entstanden die Pyrrolidoncarbonsäure

$$\left.\begin{array}{l} CH_2 \cdot CO \text{———} \\ \dot{C}H_2 \cdot CH(COOH) \end{array}\right\rangle NH$$

auf, welche in naher Beziehung zum Prolin steht. Die Überführung in Prolin ist durch die Reduktion des Pyrrolidonsäure-Äthylesters gelungen (**9**).

33, 152 u. 412 (1901); *35*, 227 (1902); *39*, 155 (1903); *40*, 215 (1903). — Pyrrolcarbonsäuren: Ebenda, *91*, 184 (1914). Identifizierung von Prolin: W. GLUND, Proc. Chem. Soc., *29*, 177 (1914). Isolierung durch die Uramidoverbindung: DAKIN, Biochem. Journ., *12*, 290 (1918).

1) P. A. LEVENE u. WALLACE, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 143 (1906). E. FISCHER u. BOEHNER, Ebenda, *65*, 118 (1910). — **2**) Bei der Verdauung von Gliadin: E. FISCHER u. LONDON, Ebenda, *73*, 398 (1911). — **3**) E. FISCHER u. G. ZEMPLÉN, Ber. chem. Ges., *42*, 1022 u. 2989 (1909). SÖRENSEN u. A. C. ANDERSEN, Compt. rend. Carlsberg, *7*, 72 (1907). — **4**) Vgl. D. VAN SLYKE, Journ. Biol. Chem., *9*, 205 (1911). R. ENGELAND, Ber. chem. Ges., *42*, 2360 (1909). Auch F. W. FOREMAN, Biochem. Ztsch., *56*, 1 (1913). Ferner ABDERHALDEN u. KAUTZSCH, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 96 (1912). Pikrat: ALEXANDROFF, Ebenda, *46*, 17 (1905). — **5**) P. A. LEVENE, Journ. exper. Med., *8*, 180 u. 461 (1906). — **6**) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *35*, 2660 (1902). Ztsch. physiol. Chem., *39*, 155 (1903). Darstellung: LEVENE u. BEATTY, Journ. exp. Med., *8*, 463 (1906). Synthese: H. LEUCHS u. FELSER, Ber. chem. Ges., *41*, 1726 (1908); *46*, 986 (1913). — **7**) G. TRIER, Über einfache Pflanzenbasen usw. Berlin 1912, p. 70. Stereoisomere Oxyproline: LEUCHS u. BORMANN, Ber. chem. Ges., *52*, 2086 (1919). — **8**) E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *36*, 462 (1902). — **9**) E. FISCHER u. BOEHNER, Ber. chem. Ges., *44*, 1332 (1911). Derivate der Pyrrolidoncarbonsäure: ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 333 (1912).

Daß man in ähnlicher Weise durch Reduktion von Succinimid $\begin{matrix} CH_2 \cdot CO \\ \cdot \\ CH_2 \cdot CO \end{matrix}\!\!>NH$ zum Pyrrolidin $\begin{matrix} CH_2 \cdot CH_2 \\ \cdot \\ CH_2 \cdot CH_2 \end{matrix}\!\!>NH$ gelangt, ist schon lange bekannt (**1**). Pyrrolcarbonsäure konnte bisher noch nicht in Prolin übergeführt werden, jedoch gelang der Versuch so weit, daß Pyrrolincarbonsäure entstand, die dem Prolin sehr ähnliche Eigenschaften besitzt (**2**).

11. Das Tryptophan, die Ursache einer Reihe auffälliger und lange bekannter Farbenreaktionen der Eiweißstoffe sowie der Entstehung von Indolderivaten bei der Eiweißfäulnis, konnte erst vor relativ kurzer Zeit durch Hopkins und Cole (**3**) aus dem tryptischen Verdauungsgemische verschiedener Eiweißstoffe isoliert werden. Es wird, wie Vines (**4**) zeigte, auch durch pflanzliche proteolytische Enzyme aus Eiweiß allgemein gebildet. Es gibt in angesäuerter Lösung mit Chlor oder Brom leicht einen rotvioletten Farbstoff, eine altbekannte Reaktion, welche, ohne daß man die Ursache derselben kannte, von Neumeister (**5**) als „Tryptophanreaktion" benannt wurde, mit dem supponierten Chromogen als Tryptophan. Stadelmann hatte den Farbstoff „Proteinochrom" genannt und dessen dem Protein entstammende Muttersubstanz „Proteinochromogen". Nencki (**6**) dachte zuerst an einen Zusammenhang der fraglichen Substanz mit Scatolaminoessigsäure. Hopkins und Cole isolierten das Tryptophan aus dem tryptischen Verdauungsgemische von Casein, wo es wie Tyrosin sehr bald abgespalten wird. Das angewendete, später durch Neuberg und durch Abderhalden modifizierte Verfahren besteht in der Fällung durch Mercurisulfat (**7**). Einen weiteren Vorteil bot Homer (**8**) die Nichtzerstörbarkeit von Tryptophan bei der Barythydrolyse von Eiweiß. Die Ausbeute betrug aus Casein 0,7—0,8%. In pflanzlichen Proteinen ist Tryptophan, nach den Farbenreaktionen zu urteilen, überall vorhanden, doch fehlt es an quantitativen Bestimmungen. Nach Fasal (**9**) ist die mit Hilfe der colorimetrischen Verwertung der Glyoxylsaure-H_2SO_4-Probe aus Edestin bestimmte Ausbeute an Tryptophan 0,378%. Nach Abderhalden und Samuely bzw. Osborne erhält man aus Weizenglutenin 1,0%, hingegen kein Tryptophan aus Zein. Die schwierige Frage nach der Konstitution des Tryptophans wurde durch Ellinger (**10**) endgültig dahin entschieden, daß wir es in ihm mit der l-β-Indol-α-Aminopropionsäure zu tun haben:

```
          CH
        //  \
      HC     C———————C · CH₂ · CHNH₂ · COOH
      |      ||      ||
      HC     C       CH
        \\  /  \    /
          CH     NH
```

---

1) Ladenburg, Ber. chem. Ges., *20*, 2215 (1887). — **2**) E. Fischer, Ebenda, *45*, 2453 (1912). — **3**) F. G. Hopkins u. S. W. Cole, Journ. of Physiol., *29*, 451 (1902); *27*, 418 (1901). — **4**) S. H. Vines, Ann. of Bot., *16*, 1 (1902). — **5**) R. Neumeister, Ztsch. Biolog., *8*, 329 (1890). E. Stadelmann, Ebenda, p. 495. Zuerst wurde die Farbenreaktion durch Tiedemann u. Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg 1831, erwähnt. Vgl. auch Klug, Pflüg. Arch., *86*, 194 (1901). — **6**) M. Nencki, Chem. Zentr. (1891), I, 589. Ber. chem. Ges., *28*, 560 (1895). — **7**) C. Neuberg, Charité-Annalen, *30*, 424 (1906). E. Abderhalden, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 207 (1907); *78*, 159 (1912). Pikrin- u. Pikrolonsäureverbindung: M. Mayeda, Ebenda, *51*, 261 (1907). — **8**) A. Homer, Journ. of Physiol., *48*, p. IV (1914); Journ. Biol. Chem., *22*, 369 (1915). — **9**) H. Fasal, Biochem. Ztschr., *44*, 392 (1912). **10**) A. Ellinger, Ber. chem. Ges., *37*, 1801 (1904); *38*, 2884 (1905). Ztsch. physiol. Chem., *55*, 8 (1908); Ber. chem. Ges., *40*, 3029 (1907).

Auf synthetischem Wege erhaltene Präparate, welcher dieser Konstitution entsprechen, sind mit Tryptophan identisch. Da β-Methylindol oder Scatol mit Chloroform und KOH β-Chlorchinolin liefert, so steht das Tryptophan in biologisch interessanter Beziehung zu den pflanzlichen Chinolinderivaten unter den Alkaloiden (1). Im tierischen Stoffwechsel ist es die Muttersubstanz der Kynurensäure oder γ-Oxy-β-Chinolincarbonsäure. Die spezifische Drehung des natürlichen Tryptophan ist $[\alpha_D]$—13,44° (2). Es geht aber leicht in racemisches inaktives Tryptophan über (3).

Hopkins (4) wies nach, daß die Eiweißreaktion nach Adamkiewicz (5): rotviolette Färbung der eisessigsauren Lösung mit konzentrierter H_2SO_4, auf der entsprechenden Reaktion der Scatolaminopropionsäure beruht, mithin die Tryptophankerne im Eiweiß anzeigt. Er zeigte sodann, daß hierbei der Gehalt der käuflichen Essigsäure an Glyoxylsäure bedeutungsvoll ist, und daß daher die Probe besser mit Glyoxylsäure oder mit einer mit Natriumamalgam behandelten, daher Glyoxylsäure-haltiger Oxalsäurelösung angestellt wird. Bei der Glyoxylsäure wiederum ist die Abspaltung von Formaldehyd der wirksame Faktor, weswegen man die Reaktion nunmehr einfach mit Formolschwefelsäure anstellen kann. Die Glyoxylsäureverbindung und das Formaldehydkondensationsprodukt von Tryptophan geben die Reaktion mit Schwefelsäure direkt (6). Auch die tiefblaue Färbung, welche trockenes, mit Alkohol und Äther gewaschenes Eiweiß beim Erhitzen mit rauchender HCl gibt: Reaktion von Liebermann, beruht nach Cole (7) auf einer Wechselwirkung zwischen dem aus dem Eiweiß abgespaltenen Tryptophan und der als Verunreinigung des Äthers hinzugekommenen Glyoxylsäure. Durch Aufnahme des Farbstoffes in Essigester läßt sich die Probe bedeutend verschärfen (8). Es wurde der spektroskopische Befund im Vergleich dieser Probe mit Eiweiß und Tryptophan studiert (9), und schließlich auch eine colorimetrische Tryptophanbestimmungsmethode auf die Glyoxylreaktion begründet (10). Die Scatolreaktion nach Sasaki mit aldehydfreiem Methylalkohol und sehr schwach eisenhaltiger konzentrierter H_2SO_4 gibt das Tryptophan nicht (11). Der bei der Bromreaktion des Tryptophans entstehende violette Farbstoff wurde für ein Gemisch verschiedener Bromtryptophane erklärt (12), doch ist dies nicht sicher. Auch auf die Bromreaktion wurde eine quantitative Methode zur Tryptophanbestimmung zu begründen versucht (13).

Nach Cole beruhen ferner auf Tryptophanabspaltung aus Eiweiß die Raspailsche Probe: purpurrote Färbung mit starker HCl und Rohrzucker oder Furfurol; ferner die Reaktion nach Reichl, welche in einer tiefblauen Färbung von Eiweiß beim Erhitzen mit starker HCl, einem Tropfen $FeCl_3$

---

1) A. Ellinger, u. Cl. Flamand, Ber. chem. Ges., *39*, 4388 (1906). — 2) H. Fischer, Ztsch. physiol. Chem., *55*, 74 (1908). Vgl. auch Abderhalden u. Baumann, Ebenda, p. 412 (1908). Affinitätskonstanten: A, Kanitz, Biochem. Ztsch., *29*, 126 (1910). — 3) R. A. Allers, Biochem. Ztsch., *6*, 272 (1907). Neuberg, Ebenda, p. 276. Über das abweichende Verhalten des Tryptophan aus Leukocyten: M. Weiss, Biochem. Ztsch., *98*, 116 (1919). — 4) Hopkins u. Cole, Proc. Roy. Soc., *68*, 21 (1901). — 5) Adamkiewicz, Pflüg. Arch., *9*, 157; Ber. chem. Ges., *8*, 161 (1875). — 6) A. Homer, Biochem. Journ., *7*, 101, 116 (1913). — 7) S. W. Cole, Journ. of. Physiol., *30*, 311 (1903). Vgl. auch A. Homer, Proc. Cambridge Phil. Soc., *16*, 405 (1912). Biochem. Journ., *7*, 101, 116 (1913). G. W. Heimrod u. Levene, Biochem. Ztsch., *25*, 18 (1910). — 8) C. Neuberg, Ebenda, *24*, 441 (1910). — 9) Fr. Bardachzi, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 145 (1906). — 10) H. Fasal, Biochem. Ztsch., *44*, 392 (1912). — 11) T. Sasaki, Ebenda, *23*, 402 (1910); *29*, 395 (1910). — 12) C. Neuberg, Ebenda, *2*, 357; *6*, 276 (1907). Levene u. Rouiller, Ebenda, *4*, 322 (1907). — 13) P. A. Levene u. C. A. Rouiller, Journ. Biol. Chem., *2*, 481 (1907).

und etwas Benzaldehyd besteht. Auf die Tryptophangruppe wird sodann die EHRLICHsche Farbenreaktion von Eiweiß mit Dimethylaminobenzaldehyd zurückgeführt (**1**). Auch diese Reaktion kann zur Tryptophanbestimmung in quantitativer Hinsicht benutzt werden (**2**). Wenn man Eiweiß mit sehr schwach nitrithaltiger Salzsäure in Gegenwart einer Spur von Formaldehyd behandelt, so tritt Violettfärbung ein (VOISENET) (**3**). Da Indol und Scatol diese Reaktion gleichfalls geben, so dürfte auch hier der Tryptophankern eine Rolle spielen. Nach GNEZDA endlich (**4**) geben Albumin, Peptone und Gelatine mit schmelzender Oxalsäure ein rotes Sublimat, ähnlich wie Indol und Scatol selbst. Da Gelatine kein Tryptophan enthält, so bleibt es noch unentschieden ob auch dieses Verhalten mit dem Tryptophan in Beziehung zu bringen ist.

Auf der Gegenwart der Tryptophangruppen im Eiweiß beruht unzweifelhaft die Bildung von Scatolcarbonsäure (SALKOWSKI) (**5**) sowie der Scatolessigsäure (NENCKI, SALKOWSKI) (**6**) bei der Eiweißfäulnis sowie die Bildung von Indol und Scatol bei der Ätzalkalischmelze und der Fäulnis von Eiweißkörpern (**7**). HERZFELD konnte bei der Einwirkung von Alkali auf Tryptophan etwa 60% der theoretischen Indolmenge erhalten, aus Eiweiß aber nur 6,5% (**8**). Die Indol bildenden Bacterien formieren, wie ERDMANN und WINTERNITZ (**9**) zeigten, auch Tryptophan, und nach ELLINGER und GENTZEN (**10**) darf das Tryptophan als die Vorstufe der Indolbildung bei der bacteriellen Eiweißzersetzung im Dickdarm angesehen werden. SANDERS und MAY (**11**) haben den bacteriellen Abbau des Tryptophans zu Indol zur quantitativen Tryptophanbestimmung vorgeschlagen, unter colorimetrischer Indolbestimmung mit Nitrit und Schwefelsäure.

Ein bei der Eiweißhydrolyse auftretendes Indolderivat ist nach BAUM und SWAIN (**12**) auch das Scatosin $C_{10}H_{16}N_2O_2$, dessen Natur noch näher aufzuklären ist.

12. Die Asparaginsäure oder Aminobernsteinsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$ ist ein regelmäßiger Befund bei der Eiweißhydrolyse durch Säuren, Alkali und Enzyme (**13**). Es handelt sich um die l-Modifikation, die sekundär allerdings oft in racemische Asparaginsäure übergeführt ist. Die frühere Meinung, daß pflanzliche Proteine mehr Asparaginsäure liefern

---

1) O. NEUBAUER, Zentr. Physiol., *19*, 145 (1905). E. RHODE, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 161 (1905). F. A. STEENSMA, Ebenda, *47*, 25 (1906). — **2**) E. HERZFELD, Biochem. Ztsch., *56*, 258 (1913). — **3**) E. VOISENET, Bull. Soc. Chim. (3), *33*, 1198 (1905). O. ROSENHEIM, Biochem. Journ., *1*, 233 (1906). — **4**) J. GNEZDA, Compt. rend., *128*, 1584 (1899). — **5**) SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *13*, 189 u. 2217 (1880). — **6**) NENCKI, Wien. Akad. Sitz.ber., *98*, IIb (1889). SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *27*, 302 (1899). — **7**) BOPP, Lieb. Ann., *69*, 21. KÜHNE, Ber. chem. Ges., *8*, 206 (1875). NENCKI, Ebenda, 336, 722; *10*, 1032 (1877). BRIEGER, Ebenda, p. 1027 u. *12*, 1985 (1879). Ztsch. physiol. Chem., *4*, 414 (1880); *3*, 131 (1879). NENCKI, Ebenda, *4*, 371 (1880). Journ. prakt. Chem., *17*, 97 (1878). SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 417 (1884). KOUKOL-YASNOPOLSKI, Pflüg. Arch., *12*, 78 (1875). WEYL, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 339 (1877). — **8**) E. HERZFELD, Biochem. Ztsch., *56*, 82 (1913). — **9**) ERDMANN u. WINTERNITZ, Münch. med. Woch.schr (1903), Nr. 23. — **10**) ELLINGER u. GENTZEN, Hofmeist. Beitr., *4*, 171 (1903). — **11**) J. A. SANDERS u. CL. E. MAY, Biochem. Bull., *2*, 373 (1913). — **12**) BAUM, Hofmeist. Beitr., *3*, 439. SWAIN, Ebenda, 442 (1903). Das von GNEZDA, Compt. rend., *133*, 517 (1901) als „Chlorisatin" angesprochene Eiweißabbauprodukt ist gleichfalls noch unklar. — **13**) RITTHAUSEN u. KREUSLER, Journ. prakt. Chem., *108*, 240 (1869). HLASIWETZ u. HABERMANN, Lieb. Ann., *159*, 304 (1871). SCHULZE u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 63 (1884). DRECHSEL, Journ. prakt. Chem. *39*, 425 (1889). SCHÜTZENBERGER, l. c. SALKOWSKI u. RADZIEJEWSKI, Ber. chem Ges., *7*, 1050 (1874). KUTSCHER, Trypsinverdauung (1899); Ztsch. physiol. Chem., *28*, 123 (1899). GAEHTGENS, Ebenda, *1*, 277 (1877).

als tierisches Eiweiß, läßt sich nicht aufrecht erhalten. Die Ausbeute beträgt in der Regel zwischen 1 und 5,5%. Es ist aus manchen Gründen wahrscheinlich, daß im Eiweißmolekel das Asparagin oder Asparaginsäureamid präformiert ist und dieses bei der Hydrolyse verseift wird. Man isoliert meist die schwer lösliche Asparaginsäure aus dem Hydrolysengemisch mittels des Kupfersalzes (**1**), doch hat sich die Estermethode nach FISCHER (**2**) auch hier bewährt. Der Ätherester destillierte bei 10 mm Druck zwischen 110—130°.

Die Stellung des Asparagins als Amid der Asparaginsäure entdeckten BOURTON-CHARLAND und PELOUZE (**3**). In älterer Zeit kannte man die Asparaginsäure nur als Produkt des Asparagins (**4**). Synthetisch stellte PIUTTI Asparaginsäure dar durch Reduktion des Oxims von Oxalessigäther mit Natriumamalgam (**5**). PASTEUR lehrte 1852 die aktiven Formen der Asparaginsäure kennen (**6**). Die l-Asparaginsäure wird durch Erhitzen auf 170° inaktiv (**7**).

13. Die α-Aminoglutarsäure oder Glutaminsäure ist gleichfalls ein allgemein verbreitetes und leicht nachweisbares Produkt der Eiweißhydrolyse, welches zuerst durch RITTHAUSEN (**8**) aus Kleber gewonnen wurde. Sie ist aus den meisten pflanzlichen Eiweißstoffen dargestellt, besonders nach den Feststellungen von OSBORNE und GILBERT (**9**), sehr reichlich im Hydrolysengemisch enthalten; aus Hordein gewann KLEINSCHMITT (**10**) fast die Hälfte des Gewichtes des Eiweiß an Glutaminsäure. Beim Leucosin aus Weizen und dem Samenglobulin von Picea excelsa wurde bloß 6—7% an Glutaminsäure erhalten, sonst betrug die Ausbeute mindestens 12, in vielen Fällen 20—30% und darüber. Tierisches Albumin und Casein sowie Muskeleiweiß ergab bis 11%; aus Leim war nicht einmal 1% zu erhalten. So wie die Asparaginsäure wahrscheinlich bei der Hydrolyse aus dem im Eiweiß präformierten Asparagin hervorgeht, so dürfte Glutamin die Muttersubstanz der Glutaminsäure sein, zumal es schon beim Kochen mit Magnesia verseift wird (**11**). Die aus Eiweiß zu erhaltende Substanz ist d-Aminoglutarsäure: $COOH \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$. Man scheidet sie am besten nach dem von HLASIWETZ und HABERMANN zuerst verwendeten Verfahren ab, indem man in das Hydrolysengemisch Chlorwasserstoffgas bis zur Sättigung einleitet und in der Kälte stehen läßt, worauf sich das allerdings oft stark verunreinigte Chlorhydrat der Säure abscheidet (**12**). Das von der HCl

---

1) Vgl. auch HENSE, Ber. chem. Ges., *34*, 348 (1901). TH. B. OSBORNE u. L. M. LIDDLE, Amer. Journ. Physiol., *26*, 420 (1910). FOREMAN, Biochem. Journ., *8*, 463 (1914). — **2**) E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *33*, 171 (1901). — Verwandlung von opt.-akt. Brombernsteinsäure zu Asparaginsäure: E. FISCHER u. RASKE, Ber. chem. Ges., *40*, 1051 (1907). — **3**) BOUTRON-CHARLAND u. PELOUZE, Ann. Chim. et Phys. (2), *52*, 90 (1833). — **4**) Vgl. PLISSON, Ebenda, *35*, 175 (1827). — **5**) A. PIUTTI, Chem. Zentr. (1888), I, 68. — **6**) L. PASTEUR, Ann. Chim. et Phys. (3), *34*, 30 (1852). — **7**) A. MICHAEL u. WING, Amer. Chem. Journ., *7*, 278 (1885). E. P. COOK, Ber. chem. Ges., *30*, 294 (1897). Chem. Zentr. (1897), II, 894. — **8**) RITTHAUSEN, Journ. prakt. Chem., *99*, 454 (1866). Die Eiweißkörper (1872), p. 215. — **9**) TH. B. OSBORNE u. R. D. GILBERT, Amer. Journ. of Physiol., *15*, 333 (1906). Ältere Lit.: HLASIWETZ u. HABERMANN, Ber. chem. Ges., *5*, 800 (1872). Lieb. Ann., *149*, 150 (1873). E. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *33*, 153 (1901). PANZER, Ebenda, *24*, 138 (1897). R. COHN, Ebenda, *22*, 174 (1896). KUTSCHER, Ebenda, *28*, 123 (1899); *38*, 126 (1903). E. SCHULZE, Ebenda, *9*, 253 (1886); *8*, 63 (1884). DRECHSEL, Journ. prakt. Chem., *39*, 425 (1889). SCHEIBLER, Ber. chem. Ges., *17*, 1725 (1884). ETARD, Compt. rend., *133*, 1231 (1901). — **10**) A. KLEINSCHMITT, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 110 (1907). — **11**) E. SELLIER, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *25*, 124 (1907). — **12**) Über Darstellung noch TH. OSBORNE u. LIDDLE, Amer. Journ. of Physiol., *26*, 420 (1910). ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 75 (1912); *78*, 115 (1912). STOLZENBERG, Ber. chem. Ges., *46*, 557 (1913). Quant.

befreite Präparat wird durch Kochen mit Tierkohle farblos. Die Oxyglutarsäure, welche HABERMANN und EHRENFELD bei der Behandlung von Casein mit verdünnter Salpetersäure erhielten, stammt offenbar aus den Glutaminresten des Eiweiß (**1**). Die optische Drehung der Glutaminsäure und des Glutamins hat SCHULZE (**2**) behandelt. Die Neutralsalze der d-Glutaminsäure sind linksdrehend, die freie Säure aber sowie das Glutamin rechtsdrehend.

Auf den Übergang der Glutaminsäure beim Erhitzen in Pyrrolidoncarbonsäure ist schon oben verwiesen worden (**3**). Dies ist eine mögliche Beziehung zum Prolin im Eiweiß und zu manchen Alkaloiden. Doch sind Prolingruppen im Eiweiß bereits vorgebildet. Beim Erhitzen der glutaminsauren Salze entsteht zunächst Glutiminsäure $C_5H_7O_3N$ (**4**).

14. Die β-Oxyglutaminsäure wurde von DAKIN (**5**) nach Extraktion des Monaminosäuregemisches aus Casein mit Butylalkohol isoliert. Sie ließ sich mit Mercuriacetat in sodaalkalischer Lösung oder Silbernitrat und NaOH fällen. Ihre wässerige Lösung dreht rechts. Verschiedene Phenole geben im Verein mit konz. H_2SO_4 Farbenreaktionen mit dieser Aminosäure. Aus anderen Eiweißkörpern ist Oxyglutaminsäure bisher noch nicht dargestellt.

SKRAUP (**6**) hatte angegeben, daß sich unter den Hydratationsprodukten von Casein auch die Oxyaminobernsteinsäure $COOH \cdot CHNH_2 \cdot CHOH \cdot COOH$ fände. Eine Bestätigung dieses Befundes oder eine Widerlegung ist bisher noch nicht erfolgt. Die Angaben desselben Forschers bezüglich verschiedener durch Phosphorwolframsäure nicht fällbarer Diaminosäuren als Produkte der Hydrolyse von Casein und Leim lassen sich nicht mehr aufrecht erhalten (**7**).

Manche Ergänzungen zu allen diesen Angaben bezüglich der Monaminosäuren, die sich bei der Eiweißhydrolyse nachweisen lassen, werden aus den Tabellen auf S. 47 und 48 zu ersehen sein, die größtenteils auf Grund der FISCHERschen Estermethoden gewonnene Resultate umfassen. Obwohl die Verluste bei dieser Trennungsmethode groß sind, so scheint es doch nicht als ob noch viele Spaltungsprodukte des Eiweiß unbekannt wären. Abgesehen von den zu erwartenden sekundären Differenzen haben die Hydrolysen mittels Säure und Alkali so übereinstimmende Befunde geliefert, daß kein Zweifel daran bestehen kann, daß alle gefundenen Aminosäuregruppen im Eiweißmolekül präformiert sind und nicht erst bei der Hydrolyse gebildet werden (**8**). Auch die vollständige Hydrolyse mit Wasser unter höherem

---

Best.: FOREMAN, Biochem. Journ., *8*, 463 (1914); Naphthalin- u. Toluolsulfoglutaminsäure: BERGELL, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 182 (1919). Dissoziat. d. Chlorhydrats: J. H. LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1333 (1915). Darstellung: H. D. DAKIN, Biochem. Journ., *12*, 290 (1918).

1) HABERMANN u. EHRENFELD, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 231 (1902). — **2**) E. SCHULZE, Ber. chem. Gs., *39*, 2932 (1906). SCHULZE u. TRIER, Ebenda, *45*, 257 (1912). WALDENsche Umkehrung: E. FISCHER u. MORESCHI, Ebenda, p. 2447. — **3**) ABDERHALDEN u. KAUTZSCH, Ztsch. physiol. Chem., *64*, 447 (1910); *68*, 487 (1910). E. FISCHER u. BOEHNER, Ber. chem. Ges., *44*, 1332 (1911). F. W. FOREMAN, Biochem. Journ., *8*, 481 (1914). — **4**) VL. STANEK, Ztsch. Zuck.ind. Böhm., *37*, 1 (1912). — **5**) H. D. DAKIN, Biochem. Journ., 12, 290 (1918). — **6**) ZD. SKRAUP, Ber. chem. Ges., *37*, 1801 (1904). Ztsch. physiol. Chem., *42*, 275 (1904). C. NEUBERG u. SILBERMANN, Ebenda, *44*, 147 (1905). ABDERHALDEN, Med. Klin., *1*, Nr. 1 (1905). — **7**) SKRAUP, Monatsh. Chem., *26*, 243 (1905); ebenda 683; WOHLGEMUTH, Ber. chem. Ges., *37*, 4362 (1904). Ztsch. physiol. Chem., *44*, 530 (1905). NEUBERG, Ebenda, *45*, 92 (1905). — **8**) Schon bei SCHULZE, BARBIERI u. BOSSHARD betont: Ztsch. physiol. Chem., *9*, 63 (1874).

Druck hat Ljubawin (1) Resultate ergeben, welche mit den anderen Erfahrungen übereinstimmen. Die von Schützenberger (2) bei der Alkalihydrolyse erhaltenen Produkte, wie Tyroleucin, Butalanin und Leucin, sind unzweifelhaft Gemische verschiedener der oben aufgezählten Monaminosäuren gewesen.

C. Stoffe, welche bei der Säurehydrolyse von Eiweiß Diaminostickstoff liefern (3).

Eiweißspaltungsprodukte, welche basischer Natur sind und den Diaminosäuren zugerechnet werden müssen, hat zuerst Drechsel (4) 1889 kennen gelehrt. Er isolierte mehrere solche Basen bei der Salzsäurehydrolyse des Caseins. Eine hierher gehörende Substanz, das Lysin, welche schon Drechsel richtig als Diaminocapronsäure erkannte, wurde später als weitverbreitetes Eiweißspaltungsprodukt vorgefunden. Das „Lysatinin“ Drechsels hingegen konnte später ebenso wenig wie seine Diaminoessigsäure wieder aufgefunden werden (5). Hedin (6) wies vielmehr für das Lysatinin nach, daß dasselbe ein Gemenge von Lysin mit dem zuerst durch Schulze und Steiger (7) in Keimlingen entdeckten Arginin gewesen sei. Das Arginin wurde durch Schulze in seiner Konstitution erschöpfend aufgeklärt und synthetisch dargestellt (8). Es ist die Guanidino-α-Aminovaleriansäure. Die meisten anderen Diaminosäuren sind später durch die Arbeiten von E. Fischer (9) synthetisch leicht zugänglich und genau bekannt geworden. 1896 entdeckte Kossel (10) ein weiteres basisches Eiweißspaltungsprodukt, das Histidin. Das analytische Verhalten aller drei Stoffe zeigt viele Analogien. Deswegen und wegen des gleichen C-Gehaltes schlug Kossel vor, dieselben als „Hexonbasen“ zusammenzufassen. Wahrscheinlich sind diese drei Diaminosäuren die einzigen mit Phosphorwolframsäure leicht fällbaren Diaminosäuren, deren Gruppen im Eiweiß regelmäßig präformiert vorkommen. In pflanzlichen Proteinen überwiegt allgemein das Arginin.

Das Lysin ist nach Fischers Synthese sicher mit der α-ε-Diaminocapronsäure $CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$ identisch. Es wird mit den anderen Hexonbasen durch Phosphorwolframsäure gefällt, mit Baryt umgesetzt, wobei es vorteilhaft ist den Niederschlag vorher wenigstens teil-

1) Ljubawin, Hoppe-Seylers Med.chem. Untersuchungen (1871), p. 463. Garill, Journ. f. Landw., *37*, 335 (1889). — 2) Schützenberger, Bull. Soc. Chim. (1874), *2*, 482; *23*, *24*, (1875); *25*, 147 (1876). Compt. rend., *84*, 124 (1877); *101*, 1267 (1886). A. Bleunard, Ebenda, *90*, 1080. Ann. Chim. et Phys. (5), *19*, 574; *26*, 5 (1882). Fleurent, Compt. rend., *117*, 790 (1893); *121*, 216 (1895). Hugounencq u. A. Morel, Ebenda, *142*, 1426 (1906). J. Galimard, Lacomme u. Morel, Ebenda, *143*, 298 (1906) Hugounencq u. A. Morel, Bull. Soc. Chim. (4), *1*, 154 (1907). — 3) Vgl. E. Schulze u. Winterstein, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, 32 (1902). Kossel, Ber. chem. Ges., *34*, 3214 (1901). — 4) Drechsel, Ber. chem. Ges., *23*, 3096 (1890). Arch. Physiol. (1891), 248. Ber. sächs. Ges. Wiss. (1892), p. 118. Ber. chem. Ges., *25*, 2454 (1892); *28*, 3189 (1895). Siegfried, Ebenda, *24*, 418 (1891). — 5) Lysatinin: Siegfried, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 192 (1902). Durch Willstätter, Ber. chem. Ges., *35*, 1379 (1902) ist es sehr zweifelhaft geworden, ob Drechsel wirklich Diaminoessigsäure in Händen hatte. Vgl. auch Sörensen, Compt. rend. Carlsberg, *6*, 61. Die Beziehungen zu Diaminoessigsäure zum Allantoin behandelt Kossel, Ber. chem. Ges., *34*, 3219 (1901). — 6) Hedin, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 186; *21*, 155, 297 (1895). — 7) Schulze u. Steiger, Ebenda, *11*, 43 (1887). Ber. chem. Ges. *19*, 1777. — 8) E. Schulze, Ebenda, *32*, 3191 (1899); *30*, 2879 (1897). Ztsch. physiol. Chem., *26*, 1 (1898). — 9) E. Fischer, Ber. chem. Ges., *34*, 454 u. 2900 (1891); *35*, 3772 (1902). Sitz.ber. Berlin. Ak. (1900), 1110. Neuberg, Ztsch. Biochem., *1*, 282 (1906). E. Fischer u. Raske, Ber. chem. Ges., *38*, 3607 (1905). Fischer u. Krämer, Ebenda, *41*, 2728 (1908). E. Fischer u. Bergmann, Lieb. Ann., *398*, 96 (1913). — 10) Kossel, Sitz.ber. Berlin. Ak., 9. April 1896. Ztsch. physiol. Chem., *22*, 182 (1896); *28*, 382 (1899).

Tabelle I.

	Glykokoll	Alanin	Valin	Leucin	Prolin	Phenylalanin	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Serin	Tyrosin	Cystin	Lysin	Histidin	Arginin	NH_3	Tryptophan	Oxyprolin
Triticum — Gliadin	0,0	2,0	0,21	5,61	7,06	2,35	0,58	37,33	0,13	1,20	0,45	0,0	0,61	3,16	5,11	+	
	0,68	2,66	0,33	6,00	2,40	2,60	1,24	36,50	0,12	2,37	—	0,0	1,70	3,40	—	1,0	
„ — Glutenin	0,89	4,65	0,24	5,95	4,23	1,97	0,91	23,42	0,74	4,25	0,02	1,92	1,76	4,72	4,01	+	
„ — Leucosin	0,94	4,45	0,18	11,34	3,18	3,83	3,35	6,73	—	3,34	—	2,75	2,83	5,94	1,41	+	—
Secale — Prolamin	0,13	1,33	?	6,30	9,82	2,70	0,25	38,05	0,06	1,19	?	0,0	0,39	2,22	5,11	+	
Hordeum — Hordein	0,0	0,43	0,13	5,67	13,73	5,03	?	43,20	?	1,67	?	0,0	1,28	2,16	4,87	+	?
Zea — Zein	0,0	8,98 (Alanin + Valin)		17,95	9,01	6,23	1,73	26,17	1,0	3,55	—	0,0	0,82	1,35	3,64	0,0	—
„ — Glutelin	0,25	?	?	6,22	4,99	1,74	0,63	12,72	?	3,78	?	2,93	3,0	7,06	2,12	+	
Avena — Proteingemisch	1,0	2,8	1,0	8,2	2,3	2,0	4,0	16,3	—	2,8	—	—	—	—	—	—	—
Oryza — „	?	3,7	?	14,3	3,3	2,0	0,4	14,5	—	0,5	—	0,86	0,81	1,6	2,23	—	—
Phaseolus — Phaseolin	0,55	1,8	1,04	9,65	2,77	3,25	5,24	14,54	0,38	2,84	?	4,58	2,62	4,87	2,06	+	—
Vicia — Legumin	0,39	1,15	1,36	8,8	4,04	2,87	3,21	18,3	?	2,42	?	3,99	2,94	11,06	2,12	+	?
Pisum — „	0,38	2,08	?	8,0	3,22	3,75	5,30	16,97	0,53	1,55	?	4,98	1,69	11,71	2,05	+	?
Vicia — Vicilin	0,0	0,5	0,15	9,38	4,06	3,82	5,30	21,34	?	2,38	?	5,4	2,17	8,91	2,03	+	?
Pisum — Legumelin	0,5	0,92	0,69	9,63	3,96	4,79	4,11	12,96	?	1,56	?	3,03	2,27	5,45	1,26	+	?
Glycine — Glycinin	0,97	?	0,68	8,45	3,78	3,86	3,89	19,46	?	1,86		2,71	1,39	5,12	2,56	+	
Vigna — Vignin	0,0	0,97	0,34	7,82	5,25	5,27	3,97	16,89	—	2,26	?	4,28	3,08	7,2	2,32	+	—
Lupinus — Conglutin α	—	—	—	—	—	.	.	20,96	.	.	.	2,74	2,51	10,93	.	.	.
„ — Conglutin β	—	—	—	—	—	.	.	30,05	.	.					.	.	.
Bertholletia — Excelsin	0,6	2,33	1,51	8,7	3,65	3,55	3,85	12,94	?	3,03	?	1,64	2,5	14,29	1,8	+	?
Cucurbita — Globulin	0,57	1,92	0,26	7,32	2,82	3,32	3,3	12,35	?	3,07	0,23	1,99	2,42	14,44	1,55	+	?
Cannabis — Edestin	3,8	3,6	6,2	14,5	1,7	2,4	4,5	14,5	0,33	2,13	1,0	1,65	2,19	14,17	2,28	+	2,0
Gossypium — Globulin	1,2	4,5	+	15,50	2,3	3,9	2,9	17,2	0,4	2,3	?	2,06	3,46	13,51	2,33	+	?
Amygdalus — Amandin	0,51	1,4	0,16	4,45	2,44	2,53	5,42	23,14	?	1,12	?	0,7	1,58	11,85	3,7	+	
Helianthus — Globulin	2,5	4,5	0,6	12,9	2,8	4,0	3,2	21,79	0,2	2,0							
Picea — Globulin	0,6	1,8	+	6,2	2,8	1,2	1,8	7,8		1,7						+	

Tabelle II.

		Glykokoll	Alanin	Leucin	Isoleucin	Valin	Prolin	Asparaginsäure	Glutaminsäure	Phenylalanin	Tyrosin	Histidin	Arginin	Lysin	Oxyprolin	Cystin	Serin
A. ADENSAMER u. PH. HOERNES, Mon. Chem., *26*, 1217 (1905)	Ovalbumin	ø	viel	+	?	+	ø										
P. A. LEVENE u. ALSBERG, Journ. biol. Chem., *2*, 127 (1906)	Vitellin	Spur	0,16	3,3			4,0	0,6	1,0	1,0	0,4	Spur	1,2	2,4			
U. SUZUKI, YOSHIMURA u. INOUYE, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 59 (1909), Ch. C. 1909, II, 631	wilde Seidenarten																
ZD. SKRAUP u. A. v. BIEHLER, Mon. Chem., *30*, 467 (1909)	Gelatine; 66 % wiedergef.	12,4	0,6	9,2			10,4	1,2	16,8	1,0		0,4	9,3	6,0	3,0		
E. ABDERHALDEN u. FR. PREGL, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 24 (1905)	Ovalbumin, krystall.		2,1	6,1			2,25	1,5	8,0	4,4	1,1	—	—	—	—	0,2	
ABDERHALDEN u. H. G. WELLS, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 31 (1905)	Keratin aus Pferdehaar	4,7	1,5	7,1		0,9	3,4	0,3	3,7		3,2						0,6
ABDERHALDEN u. E. R. LE COUNT, Ebenda, p. 40 (1905)	Keratin aus Gänsefedern	2,6	1,8	8,0		0,5	3,5	1,1	2,3		3,6						0,4
ABDERHALDEN u. A. HUNTER, Ebenda, *48*, 505 (1906)	Vitellin aus Hühnerei	1,1	+	11,0		2,4	3,3	0,5	12,2	2,8	1,6						ø
LEVENE u. W. A. BEATTY, Ebenda, *49*, 248 u. 252 (1906)	Gelatine mit 25 % H_2SO_4	19,25	3,0	6,75			6,25	ø	1,75	+					6,4		
ABDERHALDEN u. L. BAUMANN, Ebenda, *51*, 397 (1907)	Krystall. Oxyhämoglobin	Spur	3,0	17,5		1,0	4,5	2,5	1,2	5,0							
ABDERHALDEN u. T. SASAKI, Ebenda, *51*, 404 (1907)	Syntonin aus Rindfleisch	0,5	4,0	7,8		0,9	3,3	0,5	13,6	2,5	2,2						
ABDERHALDEN u. H. PRIBRAM, Ebenda, *51*, 408 (1907)	Lactalbumin aus Kuhmilch		2,5	19,4			4,0	1,0	10,1	2,4	0,85						
ABDERHALDEN u. A. VOITINOVICI, Ebenda, *52*, 348 (1907)	Hammelhorn	0,45	1,6	15,3		4,5	3,7	2,5	17,2	1,9	3,6		2,7	0,2		7,5	1,1
Dieselben, Ebenda, p. 368	Ichthylepidin (Karpfenschuppen)	5,7	3,1	15,1			6,7	1,2	9,2		1,0						
Dieselben, Ebenda, p. 368	Blutfibrin	3,0	3,6	15,0		1,0	3,6	2,0	10,4	2,5	3,5						0,8
LEVENE u. BEATTY, Biochem. Ztsch., *4*, 305 (1907)	Ovalbumin	2,0 (Glykokoll + Alanin)		17,0 (Leucin + Isoleucin + Valin)			0,5	?	8,75		1,25						
ABDERHALDEN u. ROSTOSKI, Ztsch. physiol. Chem. *44*, 265 (1905)	Casein aus Kuhmilch	·	0,9	10,5			3,1	1,2	10,7	3,2	4,5						
	Casein aus Ziegenmilch	·	1,5	7,4			4,62	1,1	11,25	2,75	4,95						

weise in Acetonwasser zu lösen (**1**). Wenn man hierauf mit heißer Silbersulfatlösung fällt, so geht das Lysin nicht in den Niederschlag und läßt sich von den beiden anderen Hexonbasen trennen. Man fällt es nun als Pikrat (**2**) oder nach WINTERSTEIN in Gegenwart von Baryt mit Quecksilberchlorid (**3**). Die Lysinsalze sind rechtsdrehend. Das optische Verhalten der freien übrigens krystallisiert noch nicht dargestellten, Diaminosäure ist unbekannt. Über die Dissoziationskonstanten sind die Angaben von KANITZ einzusehen (**4**). Bei der Synthese erhält man inaktives Lysin (**5**). Salpetrige Säure führt es in Oxyaminocapronsäure über (**6**). Oxydation mit Permanganat liefert CNH, n-Brenzweinsäure, Oxalsäure und wahrscheinlich Glutaminsäure (**7**).

Einige pflanzliche Proteine liefern gar kein Lysin. Nach OSBORNE und LEAVENWORTH (**8**) erhält man wohl aus Gliadin Lysin, nicht aber aus Zein.

Das Arginin gibt entsprechend seiner Konstitution: $\begin{matrix} NH_2 \\ NH \end{matrix}\!\!>\!C \cdot NH$ $CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$ beim Kochen mit Barytwasser Harnstoff und α-δ-Diaminovaleriansäure. Letztere, das Ornithin, fand dementsprechend KOSSEL unter den Produkten der Alkalihydrolyse von Eiweiß auf (**9**). Das Arginin fällt, wie Histidin, mit Silbersalzen aus und wird am besten nach dem von KOSSEL ermittelten quantitativen Verfahren durch Fällung des Histidins mit Quecksilbersulfat von diesem getrennt (**10**). Das natürliche Arginin ist die rechtsdrehende Modifikation (**11**). Ein in verschiedenen tierischen Geweben, auch in Hefe vorkommendes, weiter unten zu besprechendes Enzym, die Arginase, spaltet das Arginin in Harnstoff und Ornithin. Sie greift nur d-Arginin an, nicht l-Arginin, Kreatin oder Kreatinin (**12**). Auch das Guanidin wird bei der Abhandlung des Stickstoffumsatzes im Pflanzenkörper noch zu besprechen sein (**13**). Es liefert unter Wasseraufnahme leicht Harnstoff und Ammoniak:

$$NH_2 \cdot C:NH \cdot NH_2 + H_2O \rightarrow NH_2 \cdot CO \cdot NH_2 + NH_3.$$

---

1) E. WECHSLER, Ztsch. physiol. Chem., *73*, 138 (1911). Die ganze Methodik vgl. H. STEUDEL, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *1*, 489 (1909). — **2**) KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 586 (1899). WILLDENOW, Ebenda, *25*, 523 (1898). HENDERSON, Ebenda, *29*, 320 (1900). HERZOG, Ebenda, *34*, 525 (1902). SIEGFRIED, Ebenda, *43*, 363 (1905). — **3**) E. WINTERSTEIN, Ebenda, *45*, 77 (1905). Lysinplatinchlorid: SIEGFRIED, Ebenda, *76*, 234 (1911). — **4**) A. KANITZ, Ebenda, *47*, 476 (1906). — **5**) Aus Piperidin: J. v. BRAUN, Ber. chem. Ges., *42*, 839 (1909). — **6**) L. SZYDLOWSKI, Monatsh. Chem., *27*, 821 (1906). — **7**) ZICKGRAF, Ber. chem. Ges., *35*, 3401 (1902). — **8**) TH. B. OSBORNE u. LEAVENWORTH, Journ. Biol. Chem., *14*, 481 (1913). — **9**) A. KOSSEL u. F. WEISS, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 160, 165 (1910). Ornithinsalze: WEISS, Ebenda, *59*, 499 (1909). JAFFÉ, Ber. chem. Ges., *10*, 1925; *11*, 406 (1878). — **10**) Arginin: E. SCHULZE, Ergebn. d. Physiol. (1902). Ztsch. physiol. Chem., *34*, 128 (1901). KUTSCHER, Ebenda, *32*, 476 (1901). HERZOG, *34*, 525 (1902). KOSSEL u. KUTSCHER, Ebenda, *31*, 165 (1900). KOSSEL u. PATTEN, Ebenda, *38*, 39 (1903). ACKERMANN, Ebenda, *47*, 366 (1906). M. SCHENCK, Ebenda, *44*, 427 (1905). Bestimmung: ORGLMEISTER, Hofmeist. Beitr., *7*, 21 (1905). R. H. A. PLIMMER, Biochem. Journ., *10*, 115 (1916). B. C. P. JANSEN, Chem. Weekbl., *14*, 125 (1917). Methylierung: ENGELAND u. KUTSCHER, Ztsch. Biolog., *59*, 415 (1912). Homologe: WINTERSTEIN u. A. KÜNG, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 141 (1909). E. FISCHER u. ZEMPLÉN, Ber. chem. Ges., *43*, 2189 (1910). Guanidinovaleriansäure: Synthese von rac. Arginin: SÖRENSEN, Ber. chem. Ges., *43*, 643 (1910); ACKERMANN, ENGELAND u. KUTSCHER, Ztsch. Biolog., *57*, 179 (1911). — **11**) Herstellung von l-Arginin: O. RIESSER, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 210 (1906). — **12**) RIESSER, l. c. H. D. DAKIN, Journ. Biol. Chem., *3*, 435 (1909). — **13**) Guanidin: CORDIER, Monatsh. Chem., *27*, 697 (1906). Nachweis: D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 366 (1906). Zuckerverbindung: MORRELL u. BELLARS, Proc. Cambridge Phil. Soc., *13*, 79 (1905).

Bezüglich des verwandten Kreatinins, einer Verbindung der Form:

$$NH : C \left\langle \begin{array}{l} NH — CO \\ N(CH_3) \cdot CH_2 \end{array} \right.$$

welche außerdem eine Imidverkettung hat, wie sie sonst im Eiweiß vielfach vorkommen muß, vermutet SEEMANN, daß es irgendwie im Eiweiß vorgebildet sein könnte (1). Die verschiedenfach beobachtete Bildung von Guanidin und von Harnstoff aus Eiweiß bei oxydativen Prozessen beruht zweifelsohne auf den Argininresten im Eiweiß (2).

Wichtig ist der Zusammenhang von Lysin und Arginin mit Basen, welche bei der Eiweißfäulnis auftreten und aus den Diaminosäuren durch CO_2-Abspaltung hervorgehen. ACKERMANN und KUTSCHER fassen derartige Bruchstücke von Aminosäuren, die auf physiologischem Wege entstehen können, als „Aporhegmen" zusammen (3). Das Putrescin oder Tetramethylendiamin geht aus Ornithin hervor, das Cadaverin oder Pentamethylendiamin ist ein Produkt des Lysins. Ihre Konstitution ist durch UDRANSZKY und BAUMANN aufgeklärt worden (4). ELLINGER zeigte, daß beide Diamine unter CO_2-Abspaltung künstlich aus den Diaminosäuren erhalten werden (5). Zu diesen beiden Basen kommt noch das Agmatin, welches aus dem Arginin durch CO_2-Abspaltung direkt entsteht, und nach seinem Entdecker KOSSEL, der es auch synthetisch dargestellt hat, mit dem Amidobutylenguanidin $NH_2 \cdot CNH \cdot NH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$ identisch ist (6). Anscheinend kann die Abspaltung der Kohlensäure aus den Diaminosäuren auch auf katalytischem Wege erfolgen, denn WERIGO (7) gab an, Pentamethylendiamin bei der Pankreasverdauung gefunden zu haben, und ETARD und VILA (8) fanden diese Base bei der H_2SO_4-Hydrolyse von Muskeln. Offenbar muß bei der bacteriellen Bildung der Diamine eine fermentative CO_2-Abspaltung angenommen werden. SUSUKI (9) gab an, daß in Coniferensamen lockere Verbindungen von Arginin mit Eiweiß vorkommen.

Das Histidin endlich ist nach den Ermittelungen von PAULY und besonders KNOOP und WINDAUS als ein β-Imidazolderivat des Alanins anzusehen (10), welchem die Konstitution:

$$HC \left\langle \begin{array}{l} NH \cdot CH \\ \qquad \; \| \\ N — C \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \end{array} \right.$$

---

1) J. SEEMANN, Ztsch. Biolog., *69*, 333 (1907). — 2) KUTSCHER u. ZICKGRAF, Berlin. Akad., *28*, 624 (1903). KUTSCHER u. BÉNECHE, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 278 u. 413 (1901); Harnstoff: BÉCHAMP, Journ. prakt. Chem., *72*, 251. LOSSEN, Lieb. Ann., *201*, 369 (1880). F. HOFMEISTER, Arch. exp. Pathol., *37* (1896). FALTA, Ber. chem. Ges., *34*, 2674 (1901). ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 506 (1902). FR. N. SCHULZ, Ebenda, *33*, 363 (1901). HUGOUNENCQ, Compt. rend., *132*, 1240. Journ. Pharm. et Chim. (6), *13*, 560 (1901). — 3) D. ACKERMANN u. FR. KUTSCHER, Ztsch. physiol. Chem., *69*, 265 u. 273 (1910). — 4) UDRANSZKY u. BAUMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 2938; LADENBURG, Ebenda, *19*, 2585. GULEWITSCH, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 287 (1894). — 5) ELLINGER, Ber. chem. Ges., *31*, 3183 (1898); *32*, 3542 (1899). C. NEUBERG, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 110 (1905). ACKERMANN, Ebenda, *53*, 545 (1907). Pentamethylenderivate: J. v. BRAUN, Ber. chem. Ges., *43*, 2864 (1910). — 6) A. KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *66*, 257 (1910); *68*, 170 (1910). Sitz.ber. Heidelberg. Akad. (1910), Nr. 12. — 7) WERIGO, Pflüg. Arch., *51*, 362 (1891). — 8) ETARD u. VILA, Compt. rend., *135*, 698 (1902); *136*, 1285. POSTERNAK, Ebenda, *135*, 865, wies nach, daß das „Musculamin" dieser Forscher mit Pentamethylendiamin identisch ist. — 9) U. SUSUKI, Chem.-Ztg., *23*, 658 (1899). — 10) F. KNOOP u. A. WINDAUS, Hofmeist. Beitr., *7*, 144 (1905); *8*, 406 (1906); *10*, 111 (1907). H. PAULY, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 508 (1904). F. WEIGERT, Ebenda, *39*, 213 (1903). S. FRÄNKEL, Sitz.ber. Wien. Ak., *112*, IIb, März 1903. Hofmeist. Beitr., *8*, 156 (1906).

zukommt. Histidin steht somit einerseits mit dem Arginin in naher Beziehung, andererseits mit dem Alanin und dessen aromatischen Derivaten. PYMAN ist die Synthese des Histidins auf Grund dieser Tatsachen, von der Citronensäure ausgehend, gelungen (1). Sowie die natürlich vorkommenden Phenyl- und Oxyphenylderivate des Alanins linksdrehend sind, so handelt es sich auch beim Histidin um die l-Modifikation. Die Salze der Substanz sind rechtsdrehend. Bei der Darstellung kommt die Fällung als Quecksilbersalz in Betracht. Am meisten Histidin erhielt man bisher aus dem Globulin des Pferdeblutes: 11% (2). Pflanzliche Proteine liefern es zwar regelmäßig, doch in geringen Mengen, nie über 3,5%. Aus Pilzen, wie Mutterkorn und Boletus edulis, hat man das betainartige Trimethylhistidin isoliert (3), welches mit den synthetisch hergestellten Präparaten der gleichen Konstitution sicher identisch ist. Das Carnosin aus Muskel ist ein β-Alanylderivat von Histidin (4). Histidin gibt keine MILLON-Probe, wohl aber nach HERZOG (5) die Biuretreaktion. Mit Bromwasser entsteht eine Rotfärbung beim Erwärmen (6). Wie Tyrosin, so gibt auch Histidin in sodaalkalischer Lösung mit Diazobenzolsulfosäure eine dunkelrote Farbenreaktion, die bei Abwesenheit von Tyrosin zur Aufsuchung von Histidin verwendet werden kann (PAULY). Wenn man gleichzeitig anwesendes Tyrosin nach INOUYE (7) durch Benzoylierung zu dieser Reaktion unfähig macht, so läßt sich die Diazoprobe auch in Aminosäurengemischen auf Histidin verwerten. WEISS und SSOBOLEW haben auch eine colorimetrische Bestimmungsmethode auf Histidin unter Benutzung der Reaktion mit der EHRLICHschen Sulfanilsäure-Nitrit-Mischung als Diazoreagens ausgearbeitet, wobei eine Histidinlösung 1:10000 als Testlösung dient (8).

Im Tierkörper wird Histidin nach DAKIN zu Acetessigsäure und Harnstoff abgebaut (9). Vom Histidin leitet sich das β-Imidazolyl-Äthylamin oder Histamin ab (10).

Um die quantitative Analyse der Hexonbasen haben sich vor allem KOSSEL und dessen Schüler große Verdienste erworben; es erwies sich, daß besonders die im Sperma reichlich vertretenen Protamine enorme Mengen an Arginin enthalten. Von Pflanzenproteinen sind die Globuline aus Coniferensamen als argininreich zu erwähnen (11), aber auch andere Samenglobuline, die 10—12% an Arginin liefern. Edestin ergab über 14% Arginin. Die im Fischsperma vorkommenden Protamine Salmin und Clupein lieferten jedoch über 80% an Arginin. Sie enthalten weder Lysin noch Histidin.

---

1) FR. L. PYMAN, Journ. Chem. Soc., *99*, 1386 (1911); *109*, 186 (1916). O. GERNGROSS, Ber. chem. Ges., *42*, 398 (1909). Spaltung von rac. Histidin: ABDERHALDEN u. WEIL, Ztsch. physiol. Chem., *77*, 435 (1912). Darstellung: H. M. JONES, Journ. Biol. Chem., *33*, 429 (1918). — 2) LAWROW, Ber. chem. Ges., *34*, 101 (1901). Zentr. Physiol. (1901), p. 635. Pikrolonsäureverbindung: P. BRIGL, Ztsch. physiol. Chem., *64*, 337 (1910). Verbindungen: H. PAULY, Ebenda, p. 75. Dijodhistidin: PAULY, Ber. chem. Ges., *43*, 2243 (1910). — 3) G. BARGER u. A. S. EVINS, Biochem. Journ., *7*, 204 (1913). R. ENGELAND u. FR. KUTSCHER, Ztsch. f. Biol., *59*, 415 (1912). — 4) WL. GULEWITSCH, Ber. chem. Ges., *33*, 1902 (1900). Ztsch. physiol. Chem., *50*, 535 (1907). L. BAUMANN u. INGWALDSEN, Journ. Biol. Chem., *35*, 263 (1918). — 5) HERZOG, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 248 (1902). — 6) F. KNOOP, Hofmeist. Beitr., *11*, 356 (1908). — 7) K. INOUYE, Ztsch. physiol. Chem., *83*, 79 (1913). Vgl. auch KOSSEL u. EDLBACHER, Ebenda, *93*, 396 (1915). — Reaktionen: ALDRICH, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 203 (1915). — 8) M. WEISS u. N. SSOBOLEW, Biochem. Ztsch., *58*, 119 (1913). LAUTENSCHLÄGER, Ztsch. physiol. Chem.; *102*, 226 (1918). — 9) H. D. DAKIN u. A. J. WAKEMAN, Journ. Biol. Chem., *10*, 499 (1912). — 10) Synthese: K. KOSSLER u. HANKE, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 1716 (1918). — 11) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 276 (1897); *28*, 459 (1899). L. RONGGER, Landw. Versuchsstat., *51*, 89 (1899). SUZUKI, Bull. Agr. Coll., *4*, 1 (1900).

Sonst sind mit Sicherheit keine anderen Diaminosäuren als regelmäßige Produkte der Eiweißhydrolyse beobachtet. Aus Casein erhielten FISCHER und ABDERHALDEN (1) kleine Mengen einer Säure, die sie als Diamino-Trioxydodecansäure ansprachen $C_{12}H_{26}O_5N_2$. Doch ist hierüber nicht wieder berichtet worden. Die von SKRAUP angegebenen Verbindungen Diaminoglutarsäure, Diaminoadipinsäure waren offenbar Gemische verschiedener einfacher Monaminosäuren (2).

Nach HOFMEISTER beruht auf der Gegenwart der Diaminosäuregruppen im Eiweißmolekül der positive Ausfall der sogenannten Alkaloidreaktionen der Proteinstoffe (3). Vollständig erfolgen alle diese Fällungen erst bei saurer Reaktion, es werden aber Diamino-N-reiche Eiweißsubstanzen auch schon bei neutraler Reaktion gefällt. Fällungsmittel für Eiweiß sind bekanntlich Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilber- und Kaliumwismutjodid, Gerbsäure, Pikrinsäure, Ferrocyanwasserstoff und Trichloressigsäure.

D. Schwefelhaltige Hydratationsprodukte der Eiweißstoffe (4).

Schon SCHEELE wußte, daß Eiweißstoffe bei Behandlung mit Alkali reichlich Schwefelwasserstoff abspalten. Die Basis zur Kenntnis vom Schwefelgehalte der Eiweißstoffe wurde später durch eine Reihe von Arbeiten aus dem Laboratorium LIEBIGS gelegt, welche als nächste Aufgabe die Widerlegung der Proteintheorie MULDERS hatten. FLEITMANN (5) zeigte, daß MULDERS angeblich schwefelfreies „Protein" tatsächlich noch Schwefel enthielt, und es fiel diesem Forscher, wie in neuerer Zeit KRÜGER (6) auf, daß der Eiweißschwefel in ähnlicher Weise allmählich abgespalten wird, wie es beim Cystin der Fall ist. Die Vermutung, daß das von WOLLASTON zuerst aus Blasensteinen gewonnene Cystin (7) ein intermediäres Spaltungsprodukt der Eiweißkörper sei, prüfte SUTER (8), nachdem KÜLZ (9) das Cystin bei der pankreatischen Fibrinverdauung nachgewiesen hatte.

Infolge der Arbeit FLEITMANNS, welche gezeigt hatte, daß nicht der gesamte Eiweißschwefel leicht abgespalten werden kann, unterschied man bis in die jüngste Zeit eine doppelte Bindung des Eiweißschwefels. Anfangs sprach man von „oxydiertem" und „unoxydiertem" Schwefel, doch hat sich bis auf vereinzelte Ausnahmen (10) später kein Forscher für die Existenz von SO_2-Gruppen im Eiweiß mehr ausgesprochen. Man unterschied nur „locker" und „fest" gebundenen Schwefel. MÖRNER (11) hat darauf aufmerksam gemacht, daß die Annahme von Cystingruppen im Eiweiß nicht alle Reaktionen zu erklären vermag. Das reine Cystin gibt nämlich keine Reaktion mit alkalischer Nitroprussidnatriumlösung, während, wie später auch

1) E. FISCHER u. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 540 (1904). Ber. chem. Ges., (1906), p. 598). — 2) ZD. H. SKRAUP, Monatsh. Chem., *26*, 243 u. 683 (1905), ebenda, p. 1343, 1351. — 3) Vgl. hierzu HANZLIK, Journ. Biol. Chem., *20*, 13 (1915). Fällung mit Chromat.: R. S. FINCH, Biochem. Bull., *4*, 203 (1915). — 4) Vgl. E. FRIEDMANN, Ergebn. Physiol., *1*, I, 15 (1902). ABDERHALDEN, Biochem. Zentr., *2*, Nr. 8 (1904). M. HAUSMANN, Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 1915, II, 180. — 5) FLEITMANN, Lieb. Ann., *61*; *66*, 380 (1848). — 6) KRÜGER, Pflüg. Arch., *43*, 244 (1888). BAUMANN u. GOLDMANN, Ztsch. physiol. Chem., *12*, 257 (1888). — 7) Histor. über Cystin in BERZELIUS Jahresber., *19*, 706 (1840). — 8) F. SUTER, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 564 (1895). — 9) E. KÜLZ, Ztsch. Biol., *27*, 415 (1891). EMMERLING, Chem.-Ztg. (1894), Nr. 80. — 10) P. N. RAIKOW, Chem.-Ztg., *29*, 900 (1905); O. BAUDISCH, Ebenda, *32*, 620 (1908). Die „Chondroitinschwefelsäure" des tierischen Knorpels ist eine N-haltige den Kohlenhydraten nahestehende Substanz mit einem gepaarten Schwefelsäurerest. Vgl. LEVENE u. F. B. LA FORGE, Journ. of biol. Chem., *15*, 155 (1913). — 11) MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *28*, 595 (1899); *34*, 207. FR. N. SCHULZ, Ebenda, *25*, 16 (1898).

Heffter, Arnold und andere Forscher (1) gezeigt haben, eine ganze Anzahl von Proteinstoffen, die purpurfarbene Reaktion mit diesem Reagens geben, so wie Cystein, die Alkylmercaptane, Thioglykolsäure, Thiomilchsäure, Thiophenol u. a. Stoffe, welche die freie Sulfhydrylgruppe SH enthalten. Gola (2) hat für pflanzliche Gewebe und Buffa (3) für tierische Zellen die weite Verbreitung dieser Reaktion gezeigt. Stark erscheint sie besonders in den plasmareichen jungen Zellen der Vegetationspunkte. Es ist mithin wahrscheinlich, daß hier allenthalben mercaptanartige Schwefelbildung vorkommt, und Heffter hat durch Versuche an Eieralbumin auf die Wahrscheinlichkeit aufmerksam gemacht, daß die häufig zu beobachtende Reduktion von Schwefel in lebenden Zellen eine Folge dieses Gehaltes an Sulfhydrylgruppen ist, welche damit Polysulfide und freien Schwefelwasserstoff bilden.

Ganz frei von solchen Gruppen sind nach Mörner Keratin, Serumalbumin und Serumglobulin, wo aller Schwefel als Cystinschwefel vorkommen dürfte. Ob außer dem SH-Schwefel und Cystinschwefel noch andere Bindungsformen anzunehmen sind, ist noch zu untersuchen. Insbesondere hat Johnson (4) daran gedacht, ob im Eiweiß nicht thiopolypeptidartige Verkettungen mit der Gruppe CS vorkommen, und damit im Zusammenhange die Frage nach thioamidartigen Bindungen erwogen. Im Einklange mit den obigen Vorstellungen über den Zusammenhang des SH-Schwefels und des Cystinschwefels steht es, daß Mathews und Walker (5) eine spontane Oxydation des Cysteins zu Cystin in alkalischer Lösung feststellen konnten. Eisensalze katalysierten diesen Vorgang.

Bei der Eiweißhydrolyse wurde sowohl Cystin, das Sulfid des Cysteins, als auch Cystein oder das Thio-Alanin und dessen stufenweise Abbauprodukte: Thiomilchsäure, Äthylsulfid und mercaptanartige Stoffe beobachtet.

Das Cystin ist am reichlichsten aus Keratin zu erhalten. Menschenhaare lieferten bis zu 14,53%, Nägel weniger (6). Als allgemeines Produkt der Eiweißhydrolyse wurde es durch Mörner und durch Embden erkannt (7). Die Präparate aus Roßhaaren und Cystinsteinen fand Fischer völlig identisch (8). Das sehr schwer lösliche Cystin scheidet sich zugleich mit Tyrosin aus der bis zur schwach sauren Reaktion mit Alkali versetzten Hydrolysenflüssigkeit ab. Patten benutzte zur Isolierung die Fällung mit Mercurisulfat (9). Baumann wies nach, das das Cystin durch Reduktion in eine bis dahin unbekannt gewesene Base übergeht, das Cystein, welches sich zum Cystin verhält wie ein Mercaptan zu seinem Sulfid (10). Friedmann (11)

1) A. Heffter u. M. Hausmann, Hofmeist. Beitr., *5*, 213 (1904). Heffter, Mediz.naturw. Arch., *1*, 81 (1908). V. Arnold, Ztsch. physiol. Chem., *70*, 300 (1911) u. ebenda, 314. T. Thunberg, Ergebn. d. Physiol., *11*, 328 (1911). M. Hausmann, Biochem. Ztsch., *58*, 65 (1913). — 2) Gola, Malpighia, *16*, (1902). — 3) E. Buffa, Journ. de Physiol. et de Pathol. gén., *6*, 645 (1904). J. de Rey-Pailhade, Soc. Biol., *59*, 647 (1905) hat den SH_2 bildenden und schwefelreduzierenden Stoff als „Philothion" bezeichnet und labile H-Atome (Philothionwasserstoff) als Agens angenommen. — 4) Tr. B. Johnson u. G. Burnham, Journ. Biol. Chem., *9*, 331, 439 u. 449 (1911). — 5) A. P. Matthews u. S. Walker, Ebenda, *6*, 289 u. 299 (1909). — 6) H. Buchtala, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 474 (1907). — 7) Mörner, l. c. G. Embden, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 94 (1901). Zur Darstellungsmethodik: O. Folin, Journ. Biol. Chem., *8*, 9 (1910). Plimmer, Biochem. Journ., *7*, 311 (1913). — 8) E. Fischer u. U. Suzuki, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 405 (1905). Abderhalden, Ebenda, *104*, 129 (1919). — 9) J. Patten, Ebenda, *39*, 352 (1903). Ali Riza, Bull. Soc. Chim. (3), *29*, 249 (1903). Phosphorwolframsäurefällung: Winterstein, Ebenda, *34*, 153 (1901). Chem. Eigenschaften: Mauthner, Ztsch. f. Biol., *42*, 176 (1901). Cystinsalze: Mörner, Ztsch. physiol. Chem., *93*, 203 (1914). $KMnO_4$-Oxydation: Th. Lissizin, Biochem. Bull., *4*, 18 (1915). — 10) Baumann, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 299 (1884). Brenzinger, Ebenda, *16*, 552 (1892). — 11) E. Fried-

gelang es, die richtige Konstitutionsformel für das Cystein aufzufinden und zu zeigen, daß es sich um ein β-Thioalanin handelt: $SH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$. Somit wäre Cystin die Verbindung: $S \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$

$S \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$.

Das natürliche Cystin ist optisch aktiv und stellt die l-Modifikation dieser racemischen Verbindung dar. Durch Schwefelabspaltung kam MAUTHNER (1) vom Cystin zum Alanin, durch Kohlensäureabspaltung erhielten NEUBERG und ASCHER (2) Aminoäthandisulfid: $S \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$

$S \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$. FRIEDMANN gelang es vom Eiweißcystin zur α-Thiomilchsäure zu gelangen (3). Wahrscheinlich wird bei den Reaktionen, die zur Bildung der α-Thiomilchsäure führen, intermediär Brenztraubensäure gebildet, welche die α-Thiomilchsäure sekundär liefert. Nach ROTHERA (4) ist für die α-Thiomilchsäure die rote Reaktion mit $FeCl_3$ und Ammoniak charakteristisch. Aus Schafwolle stellte FRIEDMANN ferner Thioglykolsäure $SHCH_2 \cdot COOH$ her. Vielleicht sind solche Gruppen neben anderen die Quelle für die SH-Reaktionen im Eiweiß. Wie schon BAUMANN hervorhob, kann der von DRECHSEL (5) bereits erwähnte Befund von Äthylsulfid $C_2H_5 \cdot S \cdot C_2H_5$ bei der Salzsäurehydrolyse von Eiweiß gleichfalls mit dieser Gruppenreihe im Zusammenhang stehen. Dasselbe gilt vom Methylmercaptan, welches neben SH_2 in der Eiweißfäulnis entsteht (6). RUBNER gibt Äthylmercaptan als Produkt der Eiweißfäulnis an. Methylmercaptan weist man nach mittels der Reaktion von DENIGÈS: Grünfärbung mit H_2SO_4 und 1%igem Isatin (7).

Mit Quecksilberchlorid fällt man wie HILDEBRANDT (8) fand, die ganze Schwefelwasserstoff bildende Gruppierung im Eiweiß aus.

Verfahren zur Bestimmung des Gesamtschwefels der Eiweißkörper wurden angegeben durch LIEBIG (9), später von CARIUS, V. ASBOTH und DÜRING (10). Nach dem Vorgange des letztgenannten Forschers, sowie nach OSBORNE (11) schließt man das Eiweiß am besten auf, indem man die Oxydation mit Natriumsuperoxyd vornimmt.

Der Schwefelgehalt der einzelnen Proteinstoffe ist recht verschieden. Soweit bekannt, enthalten die pflanzlichen Eiweißstoffe stets unter 2% S; die tierischen Keratine können bis über 5% S aufweisen. Schwefelfrei scheinen die Protamine zu sein. Andere Angaben über schwefelfreie Proteine sind mit großer Reserve aufzunehmen (12). Die Proteosen sind ebenso schwefel-

---

MANN, Hofmeist. Beitr., *2*, 433 (1902); *3*, 1 (1903). NEUBERG, Ber. chem. Ges., *35*, 3161 (1902); FRIEDMANN, Hofmeist. Beitr., *3*, 184 (1903); *4*, 486 (1904); ERLENMEYER jun., Ber. chem. Ges., *36*, 2720 (1903).

1) J. MAUTHNER, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 28 (1912). — 2) C. NEUBERG u. E. ASCHER, Biochem. Ztsch., *5*, 451 (1907). — 3) E. FRIEDMANN u. J. BAER, Hofmeist. Beitr., *8*, 326 (1906). Vgl. hierzu MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 349 (1904); ebenda, p. 365; C. NEUBERG u. P. MAYER, Ebenda, *44*, 472 u. 498 (1905). — 4) C. H. ROTHERA, Journ. of Physiol., *32*, 175 (1905). — 5) DRECHSEL, Zentr. Physiol., *10*, 529 (1896). — 6) Vgl. SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *12*, 648 (1879); BAUMANN, l. c. 1895., RUBNER, Arch. Hyg., *19*, 136 (1893). MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 514 (1897). NENCKI u. SIEBER, Monatsh. Chem., *10*, 526 (1889). — 7) DENIGÈS, Compt. rend., *108*, 350 (1889). — 8) H. HILDEBRANDT, Hofmeist. Beitr., *11*, 409 (1908). — 9) Vgl. RÜLING, Lieb. Ann., *58*, 301 (1846). MOHR, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 556 (1895). HAMMARSTEN, Ebenda, *9*, 273 (1885). — 10) DÜRING, Ebenda, *22*, 281 (1896). ASBOTH, Chem.-Ztg. (1895), p. 2040. — 11) OSBORNE, Journ. Amer. Chem. Soc., *24*, 140; Ztsch. analyt. Chem., *41*, 25 (1902). Auch KRUMMACHER, Ztsch. Biol., *44*, 310 (1903). Gehalt vegetabilischer Stoffe an Schwefel: A. STUTZER, Biochem. Ztsch., *7*, 471 (1907). — 12) Vgl. PETIT, Compt. rend., *116*, 995 (schwefelfreies Malznuclein). NENCKI, Ber. chem. Ges., *17*, 2605 (1885). Journ. prakt. Chem., *20*, 443 (1879) über schwefelfreies Bacterienprotein.) S-freie Proteosen: SCHRÖTTER, Monatsh. Chem., *14*, 612 (1893); *16*, 609 (1895).

reich wie die nativen Eiweißstoffe. Erst von den Peptonen kennt man sicher schwefelfreie Vertreter. OSBORNE gibt für das Edestin 0,884% Gesamt-S an, für Excelsin 1,088%, für Legumin 0,385%, Vignin 0,426%, Glycinin 0,71%, Amandin 0,429%, Gliadin 1,027%, Hordein 0,847%, Zein 0,6%, Hundeblut-Oxyhämoglobin 0,5618%, Ovalbumin 1,616%, Ovovitellin 1,028% und Kuhmilchcasein 0,8% Schwefel.

E. Kohlenhydrate als hydrolytisch aus Eiweiß abspaltbare Produkte (1).

Bis in die neueste Zeit war die Frage, ob im Eiweißmolekül Kohlenhydratreste anzunehmen seien, eine offene. Es hatten zwar Befunde von SCHÜTZENBERGER die Existenz eines amidartigen Derivates von Kohlenhydraten unter den Eiweißspaltungsprodukten wahrscheinlich gemacht; ferner hatte UDRANSZKY (2) nahegelegt, daß die bei den meisten Eiweißstoffen eintretende rotviolette Reaktion mit α-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure als eine auf Kohlenhydratgruppen zu beziehende Probe aufzufassen sei. Man benutzt auch jetzt diese nach MOLISCH benannte Reaktion zum Nachweise von Kohlenhydratgruppen im Eiweiß (3). Ferner hat DRECHSEL (4) auf das Reduktionsvermögen von Eiweißstoffen aufmerksam gemacht, jedoch nicht ohne zu betonen, daß die alkalische Kupferlösung auch noch durch andere Produkte reduziert werden könne.

PAVY gelang es 1895 einwandfrei nachzuweisen, daß man bei der Salzsäurehydrolyse von Ovalbumin ein Kohlenhydrat erhält (5). Er sowohl, wie KRAWKOW (6), welcher Erbsenlegumin mit positivem Erfolge prüfte, ebenso BLUMENTHAL (7), nahm an, daß es sich um N-freie Spaltungsprodukte handle. Hingegen gewann SEEMANN (8) aus reinem Ovalbumin Glucosamin. FRÄNKEL (9) isolierte bei der Barythydrolyse von Ovalbumin eine krystallinische N-haltige Base, das Albamin, welches nach seiner Zusammensetzung ein Dihexosamin, $2(C_6H_9O_4NH_2) + H_2O$ zu sein schien. Seither ist durch EICHHOLZ, HOFMEISTER, KURAJEFF, LANGSTEIN (10) die Existenz des d-Glucosamins unter den Eiweißspaltungsprodukten außer Zweifel gesetzt worden. NEUBERG hat die sichere Identität dieses Produktes mit dem aus Chitin darstellbaren Glucosamin bewiesen (11). OSHIMA und TADOROKO fanden Glucosamin bei der Hydrolyse des Mucins der Dioscorea-Knollen (12). Doch ist damit wahrscheinlich die Kenntnis der Kohlenhydratgruppen im Eiweiß noch nicht erschöpft. LANGSTEIN (13) nahm für das Serumalbumin drei verschiedene Kohlenhydratgruppen an, von denen die eine Säurecharakter hat. Beim Alkali-Trypsin-Abbau von Globulin aus Serum erhielt

1) Vgl. L. LANGSTEIN, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, 91 (1902); *3*, I, 453 (1904). Hofmeist. Beitr., *6*, 349 (1905). — 2) UDRANSZKY, Ztsch. physiol. Chem. *12*, 389 (1888). — 3) Vgl. jedoch die Einwände von OSBORNE u. HARRIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 474 (1903). — 4) DRECHSEL, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 68 (1895). — 5) PAVY, Chem. Zentr. (1895), II, 685. — 6) KRAWKOW, Pflüg. Arch., *65*, 281 (1896). — 7) BLUMENTHAL, Compt. rend., *128*, 117 (1899); Ber. chem. Ges., *32*, 274 (1899). — 8) SEEMANN, Diss. Marburg (1898). MÜLLER u. SEEMANN, Deutsch. med. Woch.schr., *25*, 209 (1899). — 9) S. FRÄNKEL, Monatsh. Chem., *19*, 747 (1898). — 10) EICHHOLZ, Journ. of Physiol., *23*, 163 (1898). HOFMEISTER, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 159 (1897). KURAJEFF, Ebenda, *26*, 483 (1898). LANGSTEIN, Ebenda, *31*, 49 (1901); *42*, 171 (1904). Monatsh. Chem., *25*, 453 (1903). ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 530 (1904). — 11) NEUBERG, Ber. chem. Ges., *34*, 3963 (1901). Abscheidung von Glucosamin mit Phenylisocyanat: STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *34*, 353 (1901). Darstellung aus Ovomucoid: A. OSWALD, Ebenda, *68*, 173 (1910). Abbau: K. STOLTE, Hofmeist. Beitr., *11*, 19 (1907). — 12) K. OSHIMA u. TADOROKO, Journ. Coll. Agr. Sapporo, *4*, 243 (1911). — 13) LANGSTEIN, Münch. med. Woch.schr. (1902), p. 1876; Monatsh. Chem., *24*, 455 (1903). Ber. chem. Ges., *35*, 177 (1902). C. NEUBERG u. MILCHNER, Berlin. klin. Woch.schr. (1904), Nr. 41.

derselbe Forscher (1) eine N-haltige Kohlenhydratsäure, die sich wie eine Oxyaminosäure verhielt. Dazu kommen noch die später bei den Nucleoproteiden zu erwähnenden Erfahrungen über das Vorkommen von Pentoseresten.

Über die Ausbeute an Kohlenhydratgruppen aus den einzelnen Eiweißstoffen liegen nur wenige Angaben vor. LANGSTEIN erhielt aus dem Euglobulin des Eiklars etwa 8,5% Glucosamin. Casein lieferte kein Glucosamin. Aus Wittepepton stellte KRUMMACHER 2,53% Glucosamin dar (2). Wichtig ist der Befund von PICK (3), wonach Hetero- und Protoproteosen keine Kohlenhydratgruppen enthalten, andere Proteosen aber daran sehr reich sind.

Hier sei auch noch der Kohlensäureabspaltung aus Eiweißkörpern bei der Hydrolyse gedacht, als deren Quelle Uramidosäure-artige Gruppen und Glucosamin in Frage kommen (4).

F. Anderweitige Eiweißabbauprodukte und Derivate.

Auch jene Prozesse, welche nicht den Hydrolysen zuzurechnen sind, haben vielfach interessante Abbauprodukte und Derivate der Eiweißstoffe geliefert, derer hier noch gedacht werden muß.

Mit Brom unter Druck haben HLASIWETZ und HABERMANN (5) neben Oxydationsprodukten wie Kohlensäure, Oxalsäure, ebenfalls hauptsächlich Aminosäuren erhalten. Die Einwirkung von Permanganaten ist seit älteren Zeiten wiederholt untersucht worden. Man fand unter den Oxydationsprodukten Harnstoff (BÉCHAMP) (6) und Guanidin (LOSSEN), und es bleibt auch nach den letzten Untersuchungen kein Zweifel, daß primär Guanidin, sodann Harnstoff entsteht (FOSSE), und daß das Arginin die Muttersubstanz dieser Produkte ist (7). MALY (8) beschrieb als Oxyprotsulfosäure ein durch $KMnO_4$-Einwirkung entstandenes, dem Eiweiß noch nahestehendes Produkt. Doch sind nach den Arbeiten von BERNERT, v. FÜRTH und denjenigen von BURACZEWSKI (9) zweifellos mehrere Stoffe in der Oxyprotsulfosäure zu unterscheiden, welche sich durch ihre verschiedene Löslichkeit in Essigsäure und ihren verschiedenen Gehalt an bleischwärzendem Schwefel trennen lassen. Im ganzen Verlaufe lassen sich mehrere Stufen bei der Permanganateinwirkung unterscheiden. FÜRTH erhielt zunächst mindestens drei hochmolekulare Peroxyprotsäuren, deren Äthylester näher charakterisierbar waren. Mit $Ba(OH)_2$ gekocht, verlieren dieselben ihre Oxalsäure bildenden und basischen Komplexe und liefern unter N-Verlust Desaminoprotsäuren. Letztere wurden zu den amorphen Kyroprotkörpern weiter oxydiert. Zuletzt treten wie bei der oxydativen Spaltung von Eiweiß mit Chromsäuregemisch Fettsäuren von Ameisensäure bis Capronsäure auf (10). Bei der Oxydation von Eiweiß mit alkalischer Permanganatlösung fanden

---

1) L. LANGSTEIN, Monatsh. Chem., *26*, 531 (1905). — 2) O. KRUMMACHER, Ztsch. Biolog., *47*, 612 (1906). Bestimmung auch bei C. NEUBERG u. SCHEWKET, Biochem. Ztsch., *44*, 491 (1912). — 3) E. P. PICK, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 246 (1897); *28*, 219 (1899). — 4) F. LIPPICH, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 441 (1914). — 5) HLASIWETZ u. HABERMANN, Lieb. Ann., *159*, 304 (1871). — 6) BÉCHAMP, Ber. chem. Ges., *3*, 431 (1870). — 7) R. FOSSE, Compt. rend., *154*, 1187 u. 1819 (1912). — 8) R. MALY, Sitz.ber. Wien. Ak., *91*, II, 157 (1885). Monatsh. Chem., *6*, 107 (1885); *8*, 255 (1888). Sitz.ber. Wien. Ak., *98*, II, 7 (1889). BRÜCKE, Ebenda, *83* (1881). BONDZYNSKI u. ZOJA, Ztsch. physiol. Chem., *19*, 225 (1894). — 9) BERNERT, Ebenda, *26*, 225 (1894). O. v. FÜRTH, Hofmeist. Beitr., *6*, 296 (1905). J. BURACZEWSKI u. L. KRAUZE, Krakauer Akad. Anzeig. (1911), A, p. 425 (1911). Ztsch. physiol. Chem., *71*, 153 (1911); *76*, 37 (1911). Anzeig. Ak. Krakau (1912), A, p. 698; M. SCHUBERTHOWNA, Ebenda, p. 705. O. EISLER, Biochem. Ztsch., *51*, 26 u. 45 (1913). — 10) GUCKELBERGER, Lieb. Ann., *64*, 38 (1848).

KUTSCHER, ZICKGRAF, SCHENCK und SEEMANN (1) das aus dem Arginin hervorgehende Guanidin, Oxamid und oxaminsaures Ammonium, das den Glykokollgruppen entstammt und welches zum Nachweise der letzteren benutzt werden kann.

Die Einwirkung alkoholischer Natronlauge auf Eiweiß bietet nach PAAL und SCHILLING (2) keine besonderen Abweichungen. Einwirkung von Kalilauge auf Eiweiß bei niederer Temperatur studierte DANILEWSKI (3). Die Einwirkung von Alkalien bedingt zunächst Racemisierung des Eiweiß (4).

Durch die Einwirkung von Wasserstoffperoxyd auf Eiweiß gewannen FR. N. SCHULZ und COUVREUR (5) ein „Oxyprotein" von saurem Charakter, welches um 2,6% O mehr enthält als das native Eiweiß, und alle Gruppenreaktionen desselben noch zeigt. Weiterhin wird aber Ammoniak abgespalten und es entstehen Oxysäuren und Fettsäuren (6). Bei der Oxydation mit H_2O_2 und $Fe_2(SO_4)_3$ entsteht nach BLUMENTHAL und NEUBERG, sowie ORGLER (7) Aceton. Keine Hydrolyse erfolgt, wie HARRIES (8) fand, bei der Einwirkung von Ozon auf Eiweiß. Aminosäuren werden nicht abgespalten, die Tyrosingruppen jedoch zerstört. Ozonidartige Stoffe entstehen nicht.

Als Oxydationsprodukt verschiedener Eiweißstoffe, wenn dieselben mit einem Gemische aus gleichen Teilen Wasser, konzentrierter Salpetersäure und konzentrierter Schwefelsäure oder auch mit Chromsäuremischung behandelt wurden, fand PLIMMER (9) Blausäure. Casein lieferte im Mittel 0,74%, Fibrin 0,56%, Wittepepton 0,53%, Ovalbumin 0,6% und Gelatine 0,2% CNH. Von den Aminosäuren ergaben Glykokoll und Asparaginsäure am meisten Blausäure. Pflanzliche Proteinstoffe sind im Hinblick auf diese interessante Reaktion bisher nicht geprüft worden.

Bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Leim entsteht Oxalsäure, ebenso aus Kleber in der Kalischmelze neben Ammoniak (SSADIKOW) (10). Ein Nitroeiweiß herzustellen, gelang FÜRTH (11), nachdem LOEW nur weitergehenden Eiweißabbau bei der Einwirkung von Salpetersäure auf Eiweiß erreicht hatte. Das Nitrocasein von FÜRTH gab keine MILLON-Reaktion, enthielt aber noch die Indol liefernde Gruppe. KOSSEL stellte ein Nitroderivat von Edestin dar. MÖRNER (12) erhielt bei Behandlung von Eiweiß mit HNO_3 Methylsulfosäure $HO \cdot SO_2 \cdot CH_3$; Cystin als Muttersubstanz scheint ausgeschlossen. Weiter ergeben sich etwa 30% an Oxalsäure, p-Nitrobenzoesäure, Trinitrophenol, Imidazol-Glyoxylsäure, Nitro-Imidazolcarbonsäure u. a.

---

1) KUTSCHER u. ZICKGRAF, Sitz.ber. Berl. Ak., 28. Mai 1903. ZICKGRAF, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 259 (1904). KUTSCHER u. SCHENCK, Ber. chem. Ges., *37*, 2928 (1904); *38*, 455 (1905). Ztsch. physiol. Chem., *46*, 309 (1905). J. SEEMANN, Zentr. Physiol., *18*, 285 (1904). KUTSCHER u. SEEMANN, *17*, 715 (1904). Ztsch. physiol. Chem., *44*, 228 (1905). O. LOEW, Journ. prakt. Chem., *31*, 129. — 2) PAAL u. SCHILLING, Chem.-Ztg., *19*, 1487 (1895). — 3) DANILEWSKY, Ber. chem. Ges., *11*, 1257 (1878). — 4) A. KOSSEL u. F. WEISS, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 492; *60*, 311 (1909). — 5) FR. N. SCHULZ u. COUVREUR, Ebenda, *29*, 86 (1899). Münch. med. Woch.schr. (1900), p. 1521. — 6) J. EFFRONT, Compt. rend., *154*, 1111 (1912). — 7) BLUMENTHAL u. NEUBERG, Deutsch. med Woch.schr. (1901), *27*, 6; ORGLER, Hofmeist. Beitr., *1*, 583 (1902). — 8) C. HARRIES, Ber. chem. Ges., *38*, 2990 (1905). HARRIES u. LANGHELD, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 342 (1907). — 9) R. H. A. PLIMMER, Journ. of Physiol., *31*, 65 (1904); *32*, 51 (1905). Über Oxydation von Aminosäuren zu Cyaniden: DAKIN, Biochem. Journ., *10*, 319 (1916). — 10) W. SSADIKOW, Chem. Zentr. (1909), II, 1126. — 11) O. v. FÜRTH, Einwirkung von HNO_3 auf Eiweißstoffe. Habilit.-Schr. Straßburg 1899. Auch A. KOSSEL u. FR. WEISS, Ztsch. physiol. Chem., *84*, 1 (1913). — 12) C. TH. MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *93*, 175 (1914); *95*, 263 (1915); *98*, 89, 93, 97 (1916); *101*, 15 (1917); *103*, 80 (1918). KNOOP, Ebenda, *101*, 210 (1918); JOHNSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 2170 u. 2598 (1915); *38*, 1392.

Wenn man salpetrige Säure auf Eiweiß einwirken läßt, so verliert das Eiweiß die Aminogruppen und geht in Desaminoeiweiß über, welches besonders durch SKRAUP näher studiert worden ist (1). VAN SLYKE hat, wie oben erwähnt, diese Reaktion zur Bestimmung des aliphatischen Aminostickstoffes benutzt. Die Aminosäurekerne selbst bleiben in ihrer Kohlenstoffkette unverändert. Bei der Stickstoffabspaltung durch Behandlung mit Bromlauge geht die Zerstörung nach den Angaben von SKRAUP weiter und man findet nicht mehr alle Kohlenstoffskelette der Aminosäuren intakt (2).

Aus dem tierischen Stoffwechsel sind mehrere Oxydationsprodukte von Eiweiß, die den nativen Proteinen nahe stehen, bekannt geworden, nicht aber bisher aus dem pflanzlichen Stoffwechsel. Die normalen N-Substanzen des Harns bestehen nach BONDZYNSKI (3) zum Teil gleichfalls aus sauren Eiweißoxydationsprodukten, Oxyproteinsäuren. Nach GLAGOLEW (4) haben diese polypeptidartigen Charakter, enthalten 44,3% des Gesamt-N an Amid-N. Künstliche Darstellung aus Eiweiß gelang noch nicht.

Die Einwirkung von Halogenen auf Eiweißstoffe ist von besonderem Interesse für das Studium der verschiedenen Gruppierungen im Eiweißmolekül. Chlor und Brom wirken schon in der Kälte auf Eiweiß ein, Jod bei einer Temperatur von 40°. Die Halogensubstitution betrifft vor allem die Tyrosingruppen. Nachdem bereits MULDER (5) die Einwirkung von Chlor auf Eiweiß studiert hatte, haben in späterer Zeit HABERMANN und EHRENFELD, sowie PANZER (6) die Chlorierung von Casein und die Abbauprodukte des Chlorcaseins näher untersucht. Chlorcasein gibt nicht mehr die Reaktion von MOLISCH, keine MILLONsche Probe und keine Probe nach ADAMKIEWICZ. Tyrosin fehlt unter seinen Hydratationsprodukten. Ähnlich verhält sich das bromierte Eiweiß, welches O. LOEW (7) dargestellt hat, und über dessen Eigenschaften HOPKINS und PINCUS (8) berichteten. Nach VAUBEL (9) vermögen ungespaltene Eiweißstoffe im Maximum 6—7% Jod, 4—5% Brom, 2—3% Chlor oder 1% Fluor aufzunehmen. Bromjod fällt nach MOUNEYRAT (10) alle Eiweißstoffe, inklusive der Peptone als Bromjodverbindungen, nicht aber die Aminosäuren.

Am besten gekannt sind die jodierten Eiweißstoffe. Aus dem Tierreiche sind natürliche jodhaltige Proteine schon lange bekannt, vor allem das von BAUMANN (11) entdeckte Thyreoglobulin der Schilddrüse, das Jodo-

---

1) ZD. H. SKRAUP u. HOERNES, Monatsh. Chem., *27*, 631 u. 653 (1906); *28*, 447 (1907). LAMPEL, Ebenda, p. 625. TRAXL, Ebenda, *29*, 59 (1908). SKRAUP, Biochem. Ztsch., *10*, 245 (1908). LEVITES, Ebenda, *20*, 224 (1909). Ferner TREVES u. SALOMONE, Ebenda, *7*, 11 (1907). D. VAN SLYKE, Ber. chem. Ges., *43*, 3170 (1910); *44*, 1684 (1911). ABDERHALDEN, Handb. biochem. Arb.meth., *5*, II, 995 u. 1011 (1912). — 2) SKRAUP u. R. WITT, Monatsh. Chem., *28*, 605 (1907). — 3) J. BONDZYNSKI, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 83 (1905); für Blut: *58*, 134 (1908). W. GINSBERG, Zentr. Physiol., *21*, 262 (1907). — 4) P. GLAGOLEW, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 432 (1914). Bestimmung: O. FÜRTH, Biochem. Ztsch., *69*, 448 (1915). Zusammenstellung über oxydative Abbauprodukte der Proteine bei WEIL, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *9*, 36 (1915). — 5) MULDER, Journ. prakt. Chem., *20*, 340 (1840). — 6) HABERMANN u. EHRENFELD, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 467 (1901). EHRENFELD, *34*, 566 (1902). PANZER, *33*, 131 u. 595 (1901); *34*, 66 (1902). W. VAUBEL, Chem.-Ztg., *23*, 82 (1899). F. BLUM u. VAUBEL, Journ. prakt. Chem., *56*, 393; *57*, 365 (1898). HOPKINS, Ber. chem. Ges., *30*, 1860 (1897). J. H. LONG u. M. HULL, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1593 (1915). — 7) O. LOEW, Journ. prakt. Chem., *31*, 138 (1885). Chem.-Ztg., *21*, 264 (1897). — 8) HOPKINS u. PINCUS, Ber. chem. Ges., *31*, 1311 (1898). SIEGFRIED u. REPPIN, Ztsch. physiol. Chem., *95*, 18 (1915). — 9) VAUBEL, l. c. u. Ztsch. analyt. Chem., *40*, 470 (1901). — 10) MOUNEYRAT, Compt. rend., *136*, 1470 (1903). — 11) BAUMANN, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 319, 481 (1896); *22*, 1 (1896). OSWALD, *27*, 14 (1899); *32*, 121 (1901). Hofmeist. Beitr., *2*, 545 (1902). Arch. exp. Pathol., *60*, 115 (1908).

spongin aus dem Badeschwamm (**1**) und das Korallenkeratin Gorgonin nach Drechsel und Henze (**2**). Die Vermutung, daß sich in Meeresalgen gleichfalls jodhaltige Proteine finden, hat sich nicht bestätigt (**3**). Aus dem Gorgonin erhält man als jodhaltiges Spaltungsprodukt die Jodgorgosäure, für die sich die Natur als 3,5-Jodtyrosin mit Sicherheit, auch durch die Synthese, ergeben hat (**4**). Das künstliche Jodeiweiß wurde durch Liebrecht, Hopkins, Blum, Vaubel, Oswald und andere Forscher studiert und besonders durch Hofmeister und Kurajeff (**5**) zuerst in seinen Eigenschaften genau charakterisiert. Unter bestimmten Bedingungen läßt sich die Hydrolyse von Jodeiweiß so vornehmen, daß keine Abspaltung von Jod erfolgt, während die Hydrolyse bis zu den Aminosäuren fortschreitet. Es ließ sich feststellen, daß Jodeiweiß immer 3,5-Dijodtyrosin bei der Spaltung liefert. Daß auch die Tryptophangruppen jodiert seien, hat sich Pauly (**6**) zufolge nicht bestätigt. Hingegen hätte man daran zu denken, daß Jod in die Histidingruppen aufgenommen wird. Hofmeister fand, daß auf 1 Atom Schwefel 2 Atome Jod in das Protein eintreten. Jodeiweiß gibt nicht mehr die Reaktionen nach Millon und nach Adamkiewicz und schwärzt nicht alkalische Bleilösung. Nach Krzemecki (**7**) ist tryptische und peptische Verdauung von Jodeiweiß möglich, ebenso die Herstellung von jodierten Oxyprotsulfosäuren. Manche Bacterien und Schimmelpilze verarbeiten auch das jodierte Eiweiß. Weyl (**8**) hat beim Eiweißabbau mit Jodwasserstoff besondere Produkte, Jodalbose, Apojodalbose, hergestellt.

Sodann sind Benzoyl-Eiweißverbindungen durch Schrötter (**9**) aus Wittepepton, also Benzoylalbumosen, hergestellt worden, und Blum und Umbach gewannen aus Serumglobulin und Albumin feste, unlösliche und krystallinische Benzoylprodukte (**10**). Shimada (**11**) berichtete über die Einführung von Phenylgruppen in Eiweiß, über Acetylierung Landsteiner und Prašek (**12**). Daß Eiweiß mit Formaldehyd unlösliche Verbindungen liefert, ist bekannt. Nach Lumière (**13**) wird aber durch fortgesetzte Behandlung von Formolgelatine mit heißem Wasser die Gelatine wieder löslich und Formaldehyd in Freiheit gesetzt. Auch durch Chinonzusatz wird Gelatine unlöslich, doch braucht man hierzu relativ große Mengen von Chinon (**14**).

---

1) Harnack, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 412 (1898). Hundeshagen, Ztsch. angew. Chem. (1895), p. 473. L. Scott, Biochem. Ztsch., *1*, 367 (1906). Neuberg, Ebenda, *27*, 261 (1910). — **2**) Drechsel, Ztsch. Biolog., *33*, 90 (1896). Henze, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 60 (1903). H. L. Wheeler u. G. S. Jamieson, Amer. Chem. Journ., *33*, 365 (1905). — **3**) Vgl. Eschle, Ztsch. physiol. Chem., *23*, 30 (1897). Oswald, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 353 (1911). — **4**) Jodgorgosäure: H. L. Wheeler, Amer. Chem. Journ., *38*, 356 (1907). Wheeler u. Mendel, Journ. biol. Chem., *7*, 1 (1909). P. Macquaire, Compt. rend., *154*, 938 (1912). M. Henze, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 64 (1907). A. Oswald, Ebenda, *59*, 320 (1909); *70*, 310 (1911); *71*, 200 (1911); *74*, 290 u. *75*, 353 (1911). Abderhalden u. M. Guggenheim, Ber. chem. Ges., *41*, 2852 (1908). — **5**) F. Hofmeister, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 159 (1897). Kurajeff, Ebenda, *26*, 462 (1899). Schmidt, *34*, 55 (1901); *35*, 386 (1902); *36*, 343 (1902); *37*, 350 (1903). Oswald, Hofmeist. Beitr., *3*, 391, 514 (1903); Ztsch. physiol. Chem., *95*, 351 (1915). — **6**) H. Pauly, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 291 (1911); Ber. chem. Ges., *41*, 3999 (1908). A. Nürnberg, Hofmeist. Beitr., *10*, 125 (1907). A. Oswald, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 289 (1909); *58*, 290 (1909). — **7**) A. Krzemecki, Anzeig. Akad. Krakau, Abt. A (1911), p. 470. Jodierte tryptische Peptone auch P. Macquaire, Compt. rend., *153*, 1084 (1911). — Jodbestimmung im Eiweiß: L. W. Riggs, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 692 (1910); *31*, 710 (1909). — **8**) Th. Weyl, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 236 (1910). — **9**) Schrötter, Ber. chem. Ges., *22*, 1950 (1889). — **10**) F. Blum u. Umbach, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 285 (1913). — **11**) M. Shimada, Chem. Zentr. (1897), I, 929. — **12**) Landsteiner u. Prašek, Biochem. Ztsch., *74*, 388 (1916). — **13**) A. L. Lumière u. A. Seyewetz, Bull. Soc. Chim. (3), *35*, 872. — **14**) Lumière, Bull. Soc. Chim. (4), *1*, 428 (1907).

Die Methylierung von Eiweiß hat besonders SKRAUP (1) bei der Einwirkung von Jodmethyl auf Casein studiert. Hier fand keine tiefgehende Spaltung statt. Methylgelatine gab kein Tyrosin, dagegen Glutaminsäure und Leucin in der normalen Menge. Schwefelkohlenstoff-Additionsprodukte von Eiweiß werden in alkalischer Lösung erhalten (2). Nach SSADIKOW (3) läßt sich beim Thionylglutin durch die Erythrinreaktion die eingetretene Gruppe nachweisen: getrocknetes Thionylglutin mit Monochloressigsäure erwärmt, filtriert und abgekühlt, gibt auf Zusatz von 3 Vol. Alkohol und Ammoniak einen Niederschlag, der sich erst rosa, dann braun färbt. Auf die Eiweißverbindungen mit Alkaloiden (4) und anderen Basen, sowie mit Pikrinsäure (5), sei hier nur kurz hingewiesen. Es gelang nicht Eiweiß-Arsenverbindungen darzustellen (6). NEUBERG (7) konnte hingegen mit Phosphoroxychlorid Eiweißverbindungen erhalten, die als Derivate einer Phosphoraminsäure $NH_2 \cdot PO(OH)_2$ angesehen werden. Trypsin greift solches Eiweiß normal an und es wird inorganische PO_4 dabei abgespalten.

Bei der Elektrolyse von Eiweiß und Wittepepton in schwefelsaurer Lösung erhielt ATKINSON (8) etwa die Hälfte des Gesamt-N als Ammoniak. Besonderes Interesse kommt der Destillation von Eiweiß unter vermindertem Druck zu. PICTET (9) erhielt aus Ovalbumin als Hauptprodukte NH_3, CO_2, SH_2, Wasserdampf und Kohle. Nachgewiesen wurden ferner Dihydroanilin, Isocapronamid, Indol, Acetamid, Propionamid.

§ 5.

Die eiweißartigen Spaltungsprodukte der Proteinsubstanzen: Proteosen und Peptone. Polypeptide oder komplexe Aminosäuren. Ansichten über die Konstitution der Eiweißkörper.

Beim Studium der intermediären Produkte des stufenweisen Abbaues der Eiweißkörper hat man die Säurehydrolyse wenig benutzt, weil sich der Zerfall in die Endprodukte zu bald einstellt. Nach SWIRLOWSKI (10) kann man selbst mit 5% HCl durch längere Einwirkung bei 36—38° den Abbau bis zu den Monaminosäuren vollziehen. Zu vorliegendem Zwecke bietet die Anwendung der fermentativen Hydrolyse erhebliche Vorteile, weil manche Enzyme die Eiweißstoffe erst nach sehr langer Zeit bis zu Aminosäuren aufspalten, oder auch gar nicht so weit mit ihrer Wirkung gehen, so daß man große Mengen von eiweißartigen Zwischenprodukten erhält, neben denen aber auch schon einzelne zusammengesetzte Aminoderivate auftreten. In vielen Teilen ist an der Hand unserer derzeitigen Kenntnisse der Grundzug dieser Prozesse sichtbar, doch genügen die experimentell festgestellten Tatsachen noch nicht zum Entwurf eines abgerundeten Bildes des ganzen Vorganges.

---

1) ZD. H. SKRAUP u. E. KRAUSE, Monatsh. Chem., *30*, 447 (1909). SKRAUP u. BÖTTCHER, Ebenda, *31*, 1035 (1910). F. ROGOZINSKI, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 371 (1912). HERZIG u. LANDSTEINER, Biochem. Ztsch., *61*, 458 (1914); J. H. BURN, Biochem. Journ., *8*, 154 (1914); GEAKE u. NIERENSTEIN, Ebenda, p. 287; HERZIG u. LANDSTEINER, Monatsh. f. Chem., *39*, 269 (1918); Sitz.ber. Wien. Ak., *127*, IIb, 71 (1918). — 2) Z. TREVES, Arch. di Fisiol., II, 5, p. 549 (1905). — 3) W. SSADIKOW, Chem. Zentr., 1910, I, 1433. — 4) W. H. EDDY, Biochem. Bull., *2*, 111 (1912). — 5) R. LABBÉ u. R. MAGUIN, Compt. rend., *156*, 1415 (1913). — 6) C. BONGIOVANNI, Gazz. chim. ital., *43*, 161 (1913). — 7) C. NEUBERG u. H. POLLAK, Biochem. Ztsch., *26*, 529 (1910); *60*, 491 (1914). — 8) J. P. ATKINSON, Biochem. Bull., *3*, 81 (1913). — 9) A. PICTET u. M. CRAMER, Helv. chim. Act., *2*, 188 (1919); vgl. auch JOHNSON u. DASCHAVSKY, Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 1147 (1919). — 10) E. J. SWIRLOWSKI, Diss. Dorpat 1906.

Das Studium des stufenweisen Abbaues von Eiweiß (1) deckt sich bisher größtenteils mit dem Studium der „Verdauung" der natürlichen Proteine durch die enzymhaltigen Sekrete des Tierkörpers, unter denen der Magensaft und das Sekret der Pankreasdrüse den vornehmsten Rang einnehmen, sowie durch die proteolytisch wirkenden pflanzlichen Enzyme, wie Bacterienproteasen, Papayotin oder Nepenthesenzym. Bald nach der Auffindung des proteolytisch wirksamen Agens im Magensafte begann man sich der Untersuchung der aus dem Eiweiß durch die Pepsinwirkung entstehenden Produkte zuzuwenden. LEHMANN (2) nannte 1853 die Gesamtheit aller jener Produkte, welche wohl noch Eiweißreaktionen zeigen, aber bereits deutliche Verschiedenheiten vom natürlichen Eiweiß aufweisen, besonders hinsichtlich der Gerinnungsfähigkeit, „Peptone". KÜHNE und dessen Mitarbeiter suchten hierauf unter den Verdauungsprodukten größere Stoffgruppen zu unterscheiden. Dies waren die nicht koagulabeln, aussalzbaren, noch ein geringes Diffusionsvermögen zeigenden Albumosen, und die von diesen durch den Mangel der Aussalzbarkeit, selbst durch Ammoniumsulfat, und ihre ziemlich bedeutende Diffusionsfähigkeit unterschiedenen, noch in starkem Alkohol löslichen Peptone im engeren Sinne. Für die letzteren nahm KÜHNE an, daß sie durch Pankreasenzym oder durch Säuren direkt in einfache Aminosäuren aufgespalten werden. In neuerer Zeit haben die Untersuchungen über Albumosen aus der Schule von HOFMEISTER, die Arbeiten über komplexe Aminosäuren von EMIL FISCHER, sowie die gleichgerichteten Studien von ABDERHALDEN so viele Veränderungen an dem älteren Schema nötig gemacht, daß KÜHNES Auffassungen nicht mehr als die Basis für unsere Auffassung vom Gesamtverlaufe des Eiweißzerfalles dienen können, und wir brauchen daher nicht mehr ausführlich auf diese Vorstellungen zurückzukommen. Vielleicht werden, wie es die Erfahrungen über die Abspaltung von Tyrosin und Tryptophan nahegelegt haben, gewisse Aminosäuregruppen bereits in den ersten Stadien der Hydrolyse abgespalten, und es muß das Eiweißmolekül nicht streng stufenweise erst über Albumosen, Peptone, Polypeptide einfache Aminosäuren liefern. E. FISCHER (3) hegte sogar Zweifel an der chemischen Einheitlichkeit des Ausgangsmateriales und hielt es für möglich, daß die nativen Proteine Substanzgemische sind, deren Zusammensetzung lange nicht so kompliziert ist, als man anzunehmen pflegt. Solche Vorstellungen müßten ein ganz anderes Bild von den Hydrolysen geben als es in älterer Zeit entworfen worden ist.

Es ist bekannt, daß im ersten Beginne der Einwirkung von Pepsin-Salzsäure auf Eiweiß nach vorheriger Neutralisation der Säure ein Niederschlag erhalten wird. Säuren allein zeigen bei ihrer Einwirkung auf Eiweiß denselben Erfolg. MEISSNER (4) bezeichnete die fällbare Substanz als „Parapepton". Sie ist identisch mit dem durch Säureeinwirkung aus Muskeleiweiß dargestellten Syntonin. Heute nennt man diese Stoffe Acidalbumine (5). Man hat in ihnen die Denaturierungsprodukte der ionisierten Säureeiweiß-Adsorptionsverbindungen zu erblicken, welche nicht mehr reversibel in das Ausgangsmaterial überzuführen sind. Teil-

---

1) Vgl. FR. HOFMEISTER, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, 778 (1902). E. ZUNZ, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *3*, 230 (1910). — 2) LEHMANN, Lehrb. d. physiol. Chem., 2. Aufl., *1*, 318 (1853). — 3) E. FISCHER. Sitz.ber. Berlin. Akad., 1907, p. 42. — 4) G. MEISSNER, Ztsch. rationell. Medizin (1859). BRÜCKE, Sitz.ber. Wien. Akad., *37*, 131 (1859). — 5) Der Einfluß der Dissoziation wird behandelt durch A. MAYER u. G. SCHAEFFER, Arch. di Fisiol., *7*, 457 (1910). Benennung „Acidalbumin" stammt von PANUM, Ann. Chim. et Phys. (3), *37*, 237 (1853).

weise wird es sich jedoch bereits um Hydratationsprodukte handeln. Bei Einwirkung von Alkalien auf Eiweiß werden wir die analogen Vorgänge zu erwarten haben. Nur werden die entstehenden Produkte hier noch rascher denaturiert als bei der Säureeinwirkung. Man bezeichnet die Alkalieinwirkungsprodukte als Alkalialbuminate. Die Bildung von Ammoniak beim Stehen der alkalischen Eiweißlösungen zeigt an, daß hier noch früher eingreifende Spaltungsprozesse hydrolytischer Art stattfinden als bei der Einwirkung von Säuren. Im Gegensatze zu den Acidalbuminen sind die Albuminate der Ätzalkalien in Wasser sehr leicht lösliche Stoffe; weniger löslich sind die Erdalkalialbuminate. Daß man die Fällungen der Eiweißstoffe mit Schwermetallsalzen nicht einfach als Eiweißsalze bezeichnen kann, ist schon oben dargelegt worden (1). Höher konzentrierte Ätzalkalien bilden mit Eiweiß steife Gallerten (2).

Zum Acidalbumin gehört auch das „aschefreie Albumin" von HARNACK (3), welches bereits ein geringeres Molekulargewicht haben dürfte als das native Eiweiß, wie überhaupt verschiedene Beobachtungen darauf hindeuten, daß neben Acidalbumin andere Komplexe aus dem Eiweiß hervorgehen. Nach ZUNZ (4) ist Acidalbuminbildung keine notwendige Vorstufe für die Albumosenbildung. Es findet sich auch nur ein relativ kleiner Teil des Gesamt-N als Acidalbumin vor, nie über 10%, während die im Beginne der Verdauung auftretende Albumosenmenge eine sehr bedeutende ist. OSBORNES (5) Edestan war ein in Salzlösungen unlösliches Derivat des Edestins, welches durch sehr schwache Wasserstoffionenwirkung aus Edestin entsteht und nach OSBORNE in den Kreis jener Produkte gehört, die bei der Acidalbuminbildung entstehen. Näheres ist hierüber seither nicht bekannt geworden.

Proteosen oder Albumosen im Sinne von KÜHNE und CHITTENDEN (6) sind alle jene Verdauungsprodukte, welche mindestens noch durch Ammoniumsulfat aussalzbar sind und sich durch ihren Mangel an Koagulationsfähigkeit von dem genuinen Eiweiß unterscheiden. KÜHNES Mitarbeiter CHITTENDEN schlug vor, die aus den differenten Proteinen hervorgehenden Albumosen entsprechend dem Namen der Stammeiweißsubstanz als Globulosen, Vitellosen usw. zu bezeichnen, und als gemeine Benennung den Ausdruck Proteosen zu gebrauchen. KÜHNE war der Ansicht, daß die Albumosen erst über das Zwischenstadium des Acidalbumins aus Eiweiß hervorgehen. Wie erwähnt, ist es nicht mehr möglich diese Vorstellung festzuhalten (7).

KÜHNE, CHITTENDEN und NEUMEISTER (8) nahmen weiter an, daß sich unter den Proteosen zwei Abbaustufen des Eiweiß unterscheiden lassen, von denen die erste, durch Natriumchlorid und Ammoniumsulfat fällbare Stufe als „primäre Proteosen" bezeichnet wurde. KÜHNE unterschied hierin wieder zwei Fraktionen: 1. Die Protalbumose, welche durch

---

1) Schwermetalle: F. DITTHORN u. W. SCHULZ, Ztsch. Immun.forsch. I, *14*, 103 (1912). G. BONAMARTINI u. LOMBARDI, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 165 (1908). — 2) Vgl. MICHAILOW, Ber. chem. Ges., *19*, Ref. p. 555. Chem. Zentr. (1888), II, 1621. — 3) HARNACK, Ztsch. physiol. Chem., *5*, 198. Ber. chem. Ges., *22*, 3046 (1889); *23*, 3745; *25*, 204 (1892). BÜLOW, Pflüg. Arch., *58*, 207 (1894). WERIGO, Ebenda, *48*, 127 (1891). — 4) ZUNZ, Hofmeist. Beitr., *2*, 435 (1902). Ztsch. physiol. Chem., *28*, 132 (1899). — 5) OSBORNE, Ebenda, *33*, 225 (1901). — 6) KÜHNE u. CHITTENDEN, Ztsch. Biolog., *20*, 11 (1884). — 7) F. GOLDSCHMIDT, Diss. Straßburg (1898). O. MAAS, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 61 (1900). ZUNZ, Hofmeist. Beitr., *2*, 435 (1902). Ztsch. physiol. Chem., *28*, 132 (1899). — 8) NEUMEISTER, Lehrb. physiol. Chem., 2. Aufl., p. 230.

festes NaCl im Überschuß fällbar ist, sich jedoch erst bei Essigsäurezusatz vollständig abscheidet und in kaltem und heißem Wasser löslich ist; 2. die Heteroalbumose, die in kaltem und heißem Wasser unlöslich ist, jedoch in verdünntem und konzentriertem Salzwasser sich löst und hieraus durch Ausdialysieren gefällt wird. Im weiteren Verlaufe der Verdauung sollten beide Proteosen in die durch NaCl nicht mehr fällbaren, aber noch durch Sättigung mit Ammoniumsulfat aussalzbaren „Deuteroproteosen" übergehen, deren weitere Sonderung nicht mehr möglich war. Als Dysalbumose bezeichnete KÜHNE eine in Neutralsalzen unlösliche Modifikation, welche aus der Heteroalbumose beim Trocknen oder bei längerem Kontakt mit Wasser entsteht.

Die Arbeiten von HOFMEISTER und PICK, ZUNZ, STOOKEY, RAPER, ROGOZINSKI u. a. (**1**) zeigten, daß die Vorstellung von einem stufenweisen Auftreten aller dieser Proteosen nicht zutrifft, sondern daß schon primär eine größere Zahl von Proteosen auftritt, die sekundär wieder eine größere Reihe proteosenartiger Produkte liefern, welche bei der Hydrolyse der verschiedenen Eiweißkörper in verschieden großer Menge und ungleicher Kombination auftreten. Bei der Trennung dieser Fraktionen wurden brauchbare Ergebnisse nur mittels oftmaliger Fraktionierung durch verschieden gesättigte Ammoniumsulfatlösung bei neutraler oder sehr schwach alkalischer Reaktion erzielt. Wichtig ist auch die Wahl des Ausgangsmateriales, und man hat z. B. nicht zu erwarten, daß aus Witte-Pepton oder anderen Handelspräparaten (**2**) von nicht konstanter und genau bestimmbarer Zusammensetzung allgemein gültige Ergebnisse erzielt werden können. Proteosen und Peptone trennt man von den einfachen Aminokörpern am besten durch die von SCHJERNING angegebene kombinierte Natriumchlorid-Tanninfällung ab (**3**). Durch Tannin allein kann man die Proteosen bis auf Spuren aus ihrem Gemenge mit Peptonen abscheiden (**4**).

Durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat trennte PICK aus der zumeist aus „Fibrinosen" bestehenden Lösung von Wittepepton die fällbaren Hetero- und Protalbumose von den in der Lösung bleibenden Deuteroalbumosen ab. Heteroalbumose und Protalbumose ließen sich durch Dialyse oder fraktionierte Alkoholfällung trennen.

Hetero- und Protalbumose zeigen wohl eine ähnliche elementare Zusammensetzung, jedoch namhafte Differenzen hinsichtlich ihrer Reaktionen und Spaltungsprodukte. Die Heteroalbumose enthält nach PICK weit mehr, bis 39%, Diaminostickstoff, als die Protalbumose, wo sich nur 25% ergaben (**5**), und lieferte bei der Hydrolyse sehr viel Leucin und Glykokoll, aber nur sehr wenig Tyrosin, und in der Kalischmelze Indol. Hingegen erhält man aus Protalbumose kein Glykokoll, wenig Leucin, aber sehr reich-

---

1) E. P. PICK, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 246 (1897); *28*, 219 (1899). Hofmeist. Beitr., *2*, 481 (1902). E. ZUNZ, Ann. Soc. Roy. Sc. Med. Bruxelles, *13*, 42 (1904). Bull. Ac. Roy. Belg. 1911, p. 653; Bull. Soc. Roy. Bruxelles, *64*, 174 u. 187 (1906); Arch. internat. de Physiol., *12*, 395 (1913). F. HOFMEISTER, Arch. exp. Pathol., 1908, Suppl, p. 273. — **2**) Herstellung von Rohalbumosen: SCHEERMESSER, Pharm.-Ztg., *60*, 487 (1915). — **3**) SCHJERNING, Ztsch. analyt. Chem., *39*, 545 (1900). W. D. BIGELOW u. F. C. COOK, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1485. — **4**) P. MEY, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 81 (1906). Vgl. über Trennung auch M. DENNSTEDT u. F. HASSLER, Ebenda, p. 489 (1906). Ultrafiltration bewährt sich nicht: E. ZUNZ, Bull. Ac. Roy. Belg. (1912), p. 656. Skeptische Auffassungen bzw. Proteosenindividualität: O. FERNANDEZ, An. Soc. Espagn. Fis. Quim., *3*, 438 (1905). Goldzahl und Oberflächenspannung der Proteosen: E. ZUNZ, Bull. Soc. Roy. Bruxelles, *64*, 174 (1906). — **5**) Vgl. auch HASLAM, Ztsch. physiol. Chem., *32*, *54* (1901).

lich Tyrosin, und in der Kalischmelze viel Indol und Scatol. Keine der beiden Proteosen ergab Glucosamin.

Es lieferte:

	Fibrin-Heteroalbumose	Fibrin-Protalbumose
an Glutaminsäure . .	9,5 g	0,6 g
„ Leucin	3,1 g	5,8 g
„ Isoleucin	3,0 g	1,6 g
„ Valin und Alanin	8,8 g	0,8 g Valin 2,5 g Alanin
„ Prolin	4,3 g	5,0 g
„ Phenylalanin . . .	2,5 g	4,4 g
„ Asparaginsäure . .	4,7 g	3,0 g
„ Glykokoll	0,2 g	1,4 g
„ Tyrosin	3,5 g	4,6 g
„ Arginin	6,4 g	7,7 g
„ Histidin	1,8 g	2,8 g
„ Lysin	4,8 g	8,4 g
„ Cystin	4,1 g	0,7 g
„ Ammoniak . . .	1,7 g	0,9 g

Andere Daten über die Hydratationsprodukte rühren von LEVENE, VAN SLYKE und BIRCHARD (1) her.

Das Filtrat vom Niederschlage der Hetero- und Protalbumose ergab in dem Verfahren von PICK drei Fraktionen von Deuteroalbumosen:

1. Fällung mit 62%igem Ammoniumsulfat: Dieselbe zeigt eine sehr starke Schwefelbleireaktion. Mit Alkohol ließ sich eine fast 3% Schwefel enthaltende Albumose, die Thioalbumose von PICK, fällen, welche allem Anschein nach viele Cystinreste enthält. Sie gibt eine positive Biuretreaktion und MILLONsche Probe, aber keine Reaktion nach MOLISCH. Eine andere schwefelarme Albumose bleibt nach Ausfällung der Thioalbumose in Lösung.

2. Fällung durch Ganzsättigung bei neutraler Reaktion: Die fraktionierte Alkoholfällung ergab hier fünf Fraktionen. Von besonderem Interesse ist darunter die in 60—70%igem Alkohol unlösliche „Glucoalbumose". Sie gibt sehr starke Reaktion nach MOLISCH und ist N-ärmer als die meisten anderen Fraktionen. Die Biuretprobe sowie die MILLONsche Probe fallen positiv aus. Man nimmt an, daß in dieser Albumose die Kohlenhydratgruppen des Eiweiß abgespalten werden, da alle anderen Fraktionen die α-Naphtholprobe nicht geben.

3. Fällung durch Ganzsättigung nach vorsichtigem Ansäuern mit salzgesättigter Schwefelsäure. Hier ist eine alkohollösliche Albumose zugegen, die eine sehr starke Xanthoproteinreaktion zeigt, jedoch keine MILLONsche und keine Schwefelbleireaktion gibt.

ZUNZ hat ein anderes Trennungsverfahren ausgearbeitet, bei welchem Zinksulfat als Fällungsmittel dient (2). HASLAM (3), der mit Recht darauf aufmerksam macht, wie leicht sich die Löslichkeitsverhältnisse der einzelnen

---

1) P. A. LEVENE, Journ. biol. Chem., *1*, 45 (1906); LEVENE, D. VAN SLYKE u. BIRCHARD, Ebenda, *8*, 269 (1910); *10*, 57 (1911); FR. BIRCHARD, Diss. Leipzig (1909). Allgemeine Zusammensetzung des Hydrolysengemisches von Wittepepton: LEVENE u. VAN SLYKE, Biochem. Ztsch., *13*, 440 (1908). Proteosen von Leim (Gelatosen): ZD. H. SKRAUP u. HUMMELBERGER, Monatsh. Chem., *29*, 451 (1908). — 2) Zu dieser Methode auch A. BÖRNER, Ztsch. analyt. Chem., *34*, 562 (1895). — 3) H. C. HASLAM, Journ. of Physiol., *36*, 164 (1907); *32*, 267 (1905).

Proteosen und Peptone mit der Änderung in der Mischung derselben verschieden gestalten können, und wie Mitreißen von adsorbierten Stoffen die Konstanz der Zusammensetzung der Fraktionen schwer beeinträchtigen kann, legt großes Gewicht darauf, das Fraktionieren so lange fortzusetzen, bis der Stickstoffgehalt genügende Konstanz zeigt.

Es sind mithin noch erhebliche methodische Fortschritte zu machen, ehe man wird annehmen können, daß die isolierten Proteosen ausreichend charakterisiert sind. Man hat Fraktionen, wie die beschriebenen, bei der Hydrolyse der verschiedensten Eiweißstoffe erhalten. Doch ist vielleicht die Menge bei den einzelnen Proteinen ungleich. Wenigstens hat ALEXANDER (1) gefunden, daß man aus Kuhmilchcasein nur sehr wenig Heteroproteose erhält, die vielleicht sogar nur durch Beimengungen geliefert wird. Nach PICK sollen Beziehungen der Protalbumosen zu den alkohollöslichen Samenproteiden möglich sein, worüber jedoch bestimmte Anhaltspunkte fehlen.

Daß auch bei der Säurehydrolyse von Proteinen Stoffe auftreten, die als Proteosen zu bezeichnen sind, haben verschiedene Studien, darunter die Arbeiten von SKRAUP (2) gezeigt. Vielleicht liegen dieselben Verhältnisse vor, wie bei der peptischen Eiweißspaltung.

Die stufenweise Alkalihydrolyse von Eiweiß hat jedoch manche Besonderheiten hinsichtlich der Proteosenbildung ergeben. Durch die ungleich stärkere Schwefelabspaltung und Ammoniakbildung erhält die Alkalihydrolyse einen eigentümlichen Charakter, so daß man Bedenken getragen hat, hier von einer reinen Hydrolyse zu sprechen (3). MAAS beschrieb eine eigenartige in Alkohol lösliche, aber in Wasser unlösliche Albumose der Alkalihydrolyse, die er Alkalialbumose nannte. Ihre Stellung zu den anderen Albumosen ist noch nicht geklärt. Ebenso kann man sich noch nicht definitiv über die zuletzt von SKRAUP (4) näher untersuchten Produkte der Eiweiß-Alkalispaltung äußern, die durch PAAL als Lysalbinsäure und Protalbinsäure beschrieben worden sind. Jedenfalls sind auch diese Stoffe Gemenge verschiedener Proteosen und Peptone.

Die bei der Hydrolyse von Eiweiß mit überhitztem Wasserdampf auftretenden proteosenartigen Produkte hat NEUMEISTER (5) als „Atmidalbumosen" beschrieben. Er nahm an, daß die bei der Eiweiß-Papayotinspaltung auftretenden Produkte ganz ähnlicher Natur seien. Die von KÜHNE (6) aus Tuberkelbacillen angegebene „Akroalbumose" ist in neuerer Zeit nicht wieder kritisch untersucht worden.

Die meisten Reaktionen der Proteosen finden sich bei NEUMEISTER (7) genau zusammengestellt. Die typischen Eiweißreaktionen gelingen mit den Proteosen sämtlich. Jedoch werden sie durch die Fällungsmittel nicht quantitativ niedergeschlagen. Die Niederschläge, wie jener mit Ferrocyankalium-Essigsäure, lösen sich beim Erhitzen der Probe auf, um beim Er-

---

1) F. ALEXANDER, Ztsch. physiol. Chem., *25*, 411 (1898). — 2) ZD. H. SKRAUP u. A. WÖBER, Monatsh. Chem., *30*, 289 (1909). SKRAUP u. E. KRAUSE, Ebenda, *31*, 143 u. 149 (1910). — 3) Vgl. SCHMIEDEBERG, Arch. exp. Pathol., *39*, 57. DENNSTEDT, Chem.-Ztg., *25*, 814 (1901); O. MAAS, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 61 (1900). PAAL Ber. chem. Ges., *35*, 2192 (1902). Alkaliproteosen aus Horn: LANGECKER, Ztsch, physiol. Chem., *108*, 230 (1919). — 4) ZD. SKRAUP u. HUMMELBERGER, Monatsh. Chem. *30*, 125 (1909). LAMPEL u. SKRAUP, Ebenda, p. 363. N. GUPTA, Ebenda, p. 767 (1910). — 5) NEUMEISTER, Ztsch. Biol., *26*, 57 (1890); *36*, 420 (1898). SALKOWSKI, Ebenda, *34*, 190 (1896); *37*, 404 (1899); GABRIEL, Landw. Jahrb., *37*, 335 (1889). DENAYER, Chem. Zentr. (1891), I, 509. — 6) KÜHNE, Ztsch. Biolog., *30*, 221 (1894). FOLIN, Ztsch. physiol. Chem., *25*, 152 (1898). — 7) NEUMEISTER, Ztsch. Biolog., *26*, 324 (1890). Ferriverbindungen der Proteosen: F. RÖHMANN u. SHMAMINE, Biochem. Ztsch. *42*, 250 (1912).

kalten wiederzukehren. Besonders die Deuteroalbumosen zeigen die Fällungsreaktionen stark vermindert. Nach SPIEGEL (1) sollen die Proteosen bei Behandlung mit Formaldehyd koagulierbare Produkte liefern. Von neueren Reaktionen sei auf die Reaktion von CHODAT (2) mit Kresol-Tyrosinase hingewiesen, welche bei den Proteosen andere, mehr violette Farbentöne liefert als bei genuinem Eiweiß.

Das Molekulargewicht ist bei den Proteosen jedenfalls bedeutend geringer anzunehmen als bei den nativen Eiweißstoffen. SABANEJEFF (3) hat hierüber Daten mitgeteilt.

Erwähnt sei, daß es an Angaben über krystallisierende Proteosen nicht fehlt (4). Solche Albumosen sind jedoch von pflanzlichen Produkten noch nicht bekannt geworden.

Der heute noch mehr als der Proteosenbegriff schwankende Begriff „Pepton" wurde von KÜHNE auf jene Eiweißverdauungsprodukte eingeschränkt, welche nach völliger Sättigung des Verdauungsgemisches mit Ammoniumsulfat in Lösung bleiben und mindestens die Biuretreaktion, eventuell auch noch andere Eiweißreaktionen geben. Die von KÜHNE und CHITTENDEN (5) als Peptone sensu strictiori zusammengefaßten Verdauungsprodukte umfassen nur einen kleinen Teil der vordem, z. B. von MALY (6), als „Pepton" bezeichneten Stoffe. KÜHNES Peptone werden durch Pepsin-HCl nicht mehr angegriffen, werden nur durch Tannin und Jodquecksilberkalium vollständig, nahezu vollständig auch durch Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure gefällt. Andere Alkaloidreagentien erzeugen nur Trübungen. Peptone und Peptide verlieren nach KOBER (7) beim Kochen ihrer Kupferverbindungen das Kupfer nicht, während die Aminosäuren dasselbe als $Cu(OH)_2$ abspalten. KOSSEL (8) fand den C-Gehalt der Peptone etwas geringer als den der Proteosen, und das Molekulargewicht wurde relativ klein, von BERNARDI (9) mit 1853, von CIAMICIAN (10) zwischen 300—500 angegeben. Doch dachten schon KÜHNE selbst und PEKELHARING (11) nicht daran, daß diese Endfraktion der Pepsinverdauung eine einheitliche Substanz repräsentiert.

KÜHNE unterschied einmal einen Peptonkomplex, welcher aus den Deuteroalbumosen vorübergehend gebildet wird und rasch weiter in Aminosäuren zerfällt: das „Hemipepton", und einen zweiten Peptonkomplex, das „Antipepton", das nur schwierig aufgespalten wird. Beide Komplexe leiten sich von dem „Amphopepton" ab, das mit dem bei Pepsinverdauung entstehenden Endprodukte identisch sein sollte. Da KÜHNE und CHITTENDEN (12) bei der tryptischen Verdauung von Heteroalbumose besonders viel Antipepton fanden, so kamen sie zu der Auffassung, daß die „Antigruppen" und die „Hemigruppen" bereits in der Struktur der Proteosen und des Eiweiß eine Rolle spielen. Es ist aber gezeigt worden (13), daß bei der tryptischen

1) L. SPIEGEL, Verh. Naturf. Ges. 1904, II, *1*, p. 113. — 2) R. CHODAT, Arch. Sci. Phys. Genève (4), *33*, 350 (1912). — 3) A. SABANEJEFF, Chem. Zentr. (1893), II, 212. — 4) GRUTTERINCK u. C. J. WEEVERS DE GRAAF, Ztsch. physiol. Chem., *34*, 393 (1901); *46*, 472 (1905). (kryst. Harnalbumose). — 5) KÜHNE u. CHITTENDEN, Ztsch. Biolog., *22*, 423 (1887); *29*, 1 (1893). Zusammenfassung: M. SIEGFRIED, Über partielle Eiweißhydrolyse. Die Biochemie in Einzeldarstellungen, III. Berlin 1916; A. WEIL, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *9*, 33 (1915). — 6) MALY, Journ. prakt. Chem. (1875), p. 97. — 7) PH. A. KOBER, Journ. Biol. Chem., *10*, 9 (1911). — 8) KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *3*, 58 (1879). — 9) A. BERNARDI u. FABRIS, Biochem. Ztsch., *68*, 436 u. 441 (1915). — 10) G. CIAMICIAN u. ZANETTI, Chem. Zentr. (1892), II, 47. — 11) PEKELHARING, Zentr. Physiol., *7*, 43 (1893). — 12) KÜHNE u. CHITTENDEN, Ztsch. Biolog., *19*, 159 (1884). — 13) MOROCHOWETZ, Petersburger med. Woch.schr. (1886), p. 135. KUTSCHER, Endprodukt der Trypsinverdauung (1899). ROTARSKI, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 552 (1903).

Verdauung schließlich alle Biuretkörper verschwinden und daß das „Antialbumid“ und „Antipepton“ KÜHNEs sekundäre Produkte bzw. Gemenge verschiedener Hydratationsprodukte darstellen.

In der Folge haben einerseits die Arbeiten von SIEGFRIED (**1**), andererseits die zahlreichen Untersuchungen von HOFMEISTER und dessen Schülern (**2**) gezeigt, daß die Mannigfaltigkeit der bei den Peptonen erzielbaren Fraktionen ebenso groß ist, wie bei den Proteosen. Während die Proteosen so wie das genuine Eiweiß typisch amphoteren Charakter haben, zeigten die Erfahrungen bei den Peptonen, daß diese, trotzdem sie ebenfalls als Ampholyte aufzufassen sind, einen merklich stärker entwickelten Säurecharakter haben (**3**). Damit hängt es zusammen, daß man bei der fraktionierten Fällung sich hier mit Vorteil der Schwermetalle bedient, Kupfersulfat, Eisenammoniakalaun oder Uranylacetat bei möglichst neutraler Reaktion. Wenn mit diesen Mitteln keine Fällung mehr zu erreichen ist, so vermag man nach RAPER mit Kaliumquecksilberjodid weitere, vielleicht mehr basische Fraktionen zu gewinnen.

So ließen sich 5 Peptonfraktionen scheiden, von denen die eine sich durch ihren Gehalt an Histidin und Arginin, die andere durch ihren Lysingehalt auszeichnete, doch scheinen alle diese Fraktionen noch einen komplizierten, aus einer größeren Zahl von Aminosäuren aufgebauten Kern zu haben, und es ist unsicher, inwieweit dies wirklich reine Stoffe gewesen sind. Nach SIEGFRIED erhält man bei der tryptischen Verdauung keine von Pepsinpeptonen qualitativ verschiedenen Stoffe, wenngleich die schwierig zu fassenden tryptischen Peptone erst wenig bekannt sind (**4**). Das Äquivalentgewicht der von SIEGFRIED untersuchten Pepsinpeptone aus Leim und Fibrin, sowie von Fibrin-Trypsinpeptonen war höchstens 515, so daß die Zusammensetzung kaum von jener der höheren Polypeptide abweichen kann. Das Molekulargewicht in Phenol stellte sich 2—4fach so groß (**5**). Aus Pepsinglutinpepton wurden gewonnen Arginin, Lysin, Glutaminsäure, Glykokoll, Leucin, Prolin (**6**).

Die von SIEGFRIED (**7**) aufgestellte Gruppe der Kyrine umfaßt Verdauungsprodukte, welche noch die Biuretreaktion geben, sich von den Pep-

---

1) SIEGFRIED, Ber. chem. Ges., 33, 2851, 3564 (1900). Ztsch. physiol. Chem., *35*. 164 (1902). Verhandl. Naturf. Ges. 1902, II, 1, p. 51; 1905, II, 2, p. 396. P. MÜHLE, Chem. Zentr. (1901), I, 1205. F. MÜLLER, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 265 (1903). — **2**) FR. HOFMEISTER, Arch. exp. Pathol. (1908), Suppl.bd. Schmiedeberg-Festschrift, p. 273. F. ROGOZINSKI, Hofmeist. Beitr., *11*, 229 (1908). L. B. STOOKEY Ebenda, *7*, 590 (1905). H. S. RAPER, Ebenda, *9*, 168 (1907). — FRÄNKEL u. LANGSTEIN, Monatsh. Chem., *22*, 335 (1901). LANGSTEIN, Biochem. Zentr., *2*, Nr. 4 (1903). Leguminpeptone: D. PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *60*, 27 (1904). — **3**) SIEGFRIED, l. c. 1905. Ztsch. physiol. Chem., *45*, 252 (1905). AMBARD u. C. FOÀ, Soc. biol., *58*, 7 (1905). W. NEUMANN, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 216 (1905). — **4**) Isolierung von Peptonen vgl. M. SIEGFRIED, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arb.meth., *2*, 533 (1910). Biochem. Handlexikon, *4*, 198 (1911). E. ZUNZ, Handb. d. biochem. Arb.meth., *3*, 230 (1910). Aus Wittepepton: A. BERNARDI, Biochem. Ztsch., *60*, 56 (1914). Caseinpeptone: SKRAUP u. KRAUSE, Monatsh. Chem., *31*, 143 (1910). M. SIEGFRIED, Pflüg. Arch., *136*, 185 (1910). C. FUNK u. MC LEOD, Biochem. Journ., *8*, 107 (1914). Kupferverbindungen: P. A. KOBER u. K. SUGIURA, Journ. Biol. Chem., *13*, 1 (1912). Reaktionen: E. ZUNZ, Arch. intern. de Physiol., *12*, 395 (1913). Einwirkung von HJO_3: C. CASANOVA u. L. CARCANO. Boll. Chim. Farm., *51*, 289 (1912). Zur Trennung auch E. SALKOWSKI, Biochem. Ztsch., *32*, 350 (1911). Trennung durch die verschiedene Löslichkeit in Methyl- u. Äthylalkohol: VLAHUTA, Chem. Zentr. 1915, I, p. 1388. Drehungsvermögen, Adsorption: M. RAKUSIN u. BRANDO, Journ. russ. phys.chem. Ges., *47*, 1057 (1915). — **5**) SIEGFRIED, l. c. 1905. L. LEMATTE u. A. SAVÈS, Compt. rend., *148*, 553 (1909). Bull. Sci. Pharm., *17*, 328 (1910). — **6**) SIEGFRIED, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 271 (1914). — **7**) SIEGFRIED, Sächs. Ges. d. Wiss. Leipzig, 2. März 1903; 1904,

tonen aber durch eine einfachere Zusammensetzung und ihre deutlich basische Natur unterscheiden lassen. Das Glutokyrin aus Leim läßt sich in Form seines Phosphorwolframates krystallisiert erhalten und enthält $^2/_3$ seines N als Arginin und Lysin. Auch die aus Casein, Fibrin, Edestin und Globin gewonnenen Kyrine zeigen ein ähnliches Überwiegen des Diamino-N, weswegen SIEGFRIED annimmt, daß die Hexonbasengruppen im Eiweiß ebenfalls in einen dem Kyrin entsprechenden Komplex vereinigt seien. Die von SKRAUP (1) gegen die einheitliche Natur der Kyrine erhobenen Bedenken hat SIEGFRIED zurückgewiesen. LEVENE (2) meint, die Kyrinfraktion des Caseins enthalte bloß einfache Peptide, die in ihrem Molekül nur eine einzige basische Substanz führen. Erwähnt sei noch die Angabe von SPIEGEL (3), wonach Pepton durch Stehen in der Kälte mit Formaldehyd, albumosenartige Kondensationsprodukte liefert.

HOFMEISTER hatte die im weiteren Verlaufe der Eiweißhydrolyse zu erwartenden Produkte, welche kleineren Aminosäurenkomplexen entsprechen und sich von Peptonen durch den Mangel der Biuretprobe unterscheiden, vorläufig als „Peptoide" zusammengefaßt. Um eine Richtschnur für fernere Untersuchungen zu erhalten, suchte sich HOFMEISTER (4) bestimmte Vorstellungen über die Bindungsart der Aminosäuren im Eiweiß zu bilden und kam zu der Überzeugung, daß der Gruppierung —CO—NH—C$<$ eine große Bedeutung zukommen müsse. Daß im Eiweiß nicht hauptsächlich freie NH_2-Gruppen zugegen sein können, folgt nämlich daraus, daß bei Behandlung mit HNO_2 nitrosaminartige Stoffe auftreten, nicht aber viel N_2 entwickelt wird, dies spricht für die Präexistenz von Imidgruppen. Sodann ist die Rotfärbung mit Cu-Salzen in alkalischer Lösung, die wir als „Biuretreaktion" bezeichnen (5), nach SCHIFF (6) für alle Stoffe charakteristisch, welche, wie das Biuret: NH_2—CO—NH—CO—NH_2, mindestens zwei $CONH_2$-Gruppen an einem C- oder N-Atom oder direkt miteinander vereinigt haben, oder durch eine bis mehrere $CONH_2$-Gruppen in offener Kette vereinigt sind, wie Oxamid, Malondiamid, Glycylglycinäthylester und andere Polypeptide. Auch SCHIFFS „Polyaspartsäuren", Kondensationsprodukte des Asparagins, geben nach GRIMAUX (7) die Biuretreaktion. HOFMEISTER kam so zur Ansicht,

---

p. 117; Ztsch. physiol. Chem., *43*, 44 (1904); *48*, 54 (1906); *50*, 163 (1906); *97* 233 (1916). Handb. d. biochem. Arb.meth., *2*, 542 (1910). Biochem. Handlex., *4*, 198 (1911). Ztsch. physiol. Chem., *84*, 288 (1913). P. A. LEVENE u. F. J. BIRCHARD, Journ. Biol. Chem., *13*, 277 (1912).

1) ZD. SKRAUP u. ZWERGER, Monatsh. Chem., *26*, 1403 (1905); *27*, 663 (1906). — 2) LEVENE u. J. VAN DER SCHEER, Journ. Biol. Chem., *22*, 425 (1915). — 3) L. SPIEGEL, Ber. chem. Ges., *38*, 2696 (1905). — 4) FR. HOFMEISTER, Naturwiss. Rdsch. (1902), p. 529. Verhandl. Naturf. Ges. Carlsbad 1902, II, 33. — 5) Die Biuretreaktion zuerst bei Eiweiß beobachtet von F. ROSE, Pogg. Ann., *28*, 132 (1833). WIEDEMANN, Ebenda, *74*, 67 (1849) sah das gleiche Verhalten bei dem von ihm entdeckten Biuret. Vgl. auch LASSAIGNE, Compt. rend., *14*, 529 (1842). Nickelsalze geben die Reaktion mit orangefarbenem Ton. — 6) H. SCHIFF, Ber. chem. Ges., *29*, 298 (1896). Lieb. Ann., *299*, 236 (1897); *319*, 287 (1901). BRÜCKE, Sitz.ber. Wien. Ak., *87*, III, 141 (1885) nahm an, daß sein „Alkophyr" die Biuretreaktion des Eiweiß bedinge. GNEZDA, Chem. Zentr. (1891), I, 1030 führte die Biuretreaktion auf CN-haltge. Radikale zurück. — 7) SCHIFF, Ber. chem. Ges., *30*, 2449 (1897). Lieb. Ann., *303*, 183 (1898); *307*, 231 (1899). Gazz. chim. ital., *30*, I, 8 (1900). E. GRIMAUX, Bull. Soc. Chim., *42*, 545 (1885); *38*, 64 (1882). Über kolloide synthet. Produkte aus Aminosäuren auch J. W. PICKERING, Compt. rend., *120*, 1348 (1895). Zentr. Physiol., *9*, 599 (1895); Proc. Roy. Soc., *60*, 337 (1896). Compt. rend., *125*, 963 (1897). Über Lilienfelds „künstl. Pepton" M. KLIMMER, Pflüg. Arch., *77*, 210. Journ. prakt. Chem., *60*, 280 (1899).

daß die Aminosäurekerne im Eiweiß in analoger Weise miteinander vereinigt sind, wie man es durch das Schema z. B. der Verbindung von Leucin und Glutaminsäure: —CO—NH—CH—CO—NH—CH—CO—NH—

$$\begin{array}{lll} -CO-NH-CH-CO-NH-CH-CO-NH- \\ \qquad\qquad\quad\; \dot{C}_4H_9 \qquad\qquad \dot{C}H_2 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad\; \dot{C}H_2 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad\; \dot{C}OOH \end{array}$$

ausdrücken kann.

Für die praktische Herstellung solcher Verbindungen war die Idee von E. FISCHER (1) bahnbrechend, von den cyklischen Kondensationsprodukten auszugehen, deren Typus das Leucinimid und das Glycinanhydrid von CURTIUS sind, und die sich in der Tat durch Hydratation unter Aufspaltung des „Diacipiperazinringes" in jene komplexe Aminosäuren überführen lassen, welche FISCHER allgemein als Peptide bezeichnete:

Glycinanhydrid: $NH \cdot CH_2 \cdot CO$

$$\dot{C}O \cdot CH_2 \cdot \dot{N}H + H_2O = NH_2—CH_2—CO—NH—CH_2—$$
$$—COOH \text{ Glycylglycin.}$$

Die hier entstehende Substanz wurde als Glycylglycin bezeichnet. Es gelang alsbald auch vier Glycylreste miteinander zu verkuppeln und zu zeigen, daß theoretisch einer beliebigen Verlängerung der Kette nichts im Wege steht. Es liegt somit im Bereiche der Möglichkeit „Polypeptide", wie nun diese Stoffe genannt wurden, zu erzeugen, welche an Molekulargröße und Mannigfaltigkeit der darin vorhandenen Aminosäuregruppen jeden Vergleich mit echten Eiweißstoffen aufnehmen können. Eine erwünschte Bestätigung dieser Ansichten erwuchs aus der Entdeckung FISCHERS, daß bei der Hydrolyse von Seidenfibroin ein Dipeptid aufgefunden wurde, welches offenbar ein Alanylglycin der obigen Konstitution war (2).

Es hätte hier keinen Zweck, ausführlich auf die mehr als 100 verschiedenen Polypeptide einzugehen, die E. FISCHER (3) und dessen Mitarbeiter, vor allem ABDERHALDEN (4), im Laufe der Zeit dargestellt haben.

---

1) E. FISCHER u. E. FOURNEAU, Ber. chem. Ges., *34*, 2868 (1901). E. FISCHER, Ebenda, *36*, 2094 (1903). Chem.-Ztg., 1902, Nr. 80. — 2) FISCHER u. BERGELL, Ber. chem. Ges., *36*, 2592 (1903). — 3) Die bis 1906 erschienenen Arbeiten E. FISCHERS sind vereinigt in „Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine", Berlin 1906. Fernere Zusammenfassungen: E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *39*, 530 (1906); Sitz.ber. Berlin. Ak. 1907, p. 35; E. ABDERHALDEN, Med. Klinik 1905, Nr. 46; F. SAMUELY, Biol. Zentr., *26*, 370 (1906); K. RASKE, Biochem. Handlex., *4*, 211 u. 353 (1911); ABDERHALDEN, Die Naturwiss. (1913), *1*, 1181. Methoden der Synthese: ABDERHALDEN, Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 545 (1910). Spezialarbeiten: E. FISCHER, Lieb. Ann., *340*, *354*, *357*, *362*, *363*, *365*, *369*, *375* (1905—1910); ferner Ber. chem. Ges., *38*, 2375, 2914, 4173 (1905; *39*, 453, 1276, 2893 (1906); *40*, 943, 1754, 2048, 3704 (1907); *41*, 850, 2860 (1908); *42*, 1485, 4752 (1909). G. ZEMPLEN, Abderhaldens biochem. Handlex., *9*, 37 (1915). — 4) E. ABDERHALDEN, Med. Klin. 1906, Nr. 40. Ber. chem. Ges., *40*, 2737 (1907); *41*, 1237, 2840, 2857 (1908); *42*, 2331, 3394, 3411 (1909); *43*, 907, 2151, 2429, 2435 (1910). Ztsch. physiol. Chem., *54*, 331 (1908); *64*, 436 (1910); *72*, 24 u. 44; *74*, 394 u. 505; *75*, 19 (1911); *77*, 471; *81*, 1; *82*, 160 (1912); *86*, 454 (1913); Ber. chem. Ges., *49*, 2449 (1916); H. FISCHER, Ber. chem. Ges., *42*, 4320 (1909); *43*, 1963 (1910). Ferner: L. HUGOUNENQ u. MOREL, Compt. rend., *142*, 48 (1905); *148*, 236 (1909). Benzoylpeptid von Asparagin: T. SASAKI, Hofmeist. Beitr., *10*, 120 (1907); Polypeptidphosphorsäure aus Casein: A. REH, Ebenda, *11*, 1 (1907). HOPWOOD u. WEIZMANN, Journ. Chem. Soc., *99*, 571 u. 1577 (1911). Proc. Roy. Soc., A, *88*, 455 (1913); Synthese durch Glycerineinwirkung auf Aminosäuren: L. C. MAILLARD, Compt. rend.,

Fast sämtliche bisher aus Eiweiß bekannt gewordenen Aminosäuren sind in mannigfachen Derivaten zu Polypeptiden verarbeitet worden, und mit enormem Aufwand von Mitteln und Scharfsinn gelang es, bis zu 19 Aminosäurekerne miteinander zu kuppeln. Schon das Leucyldekaglycylglycin ist eine schwer lösliche Substanz vom Molekulargewicht 758,8, in der Lösung stark schäumend und daraus gallertig fällbar; das α-Octadecapeptid: l-Leucyltriglycylleucyltriglycylleucyloctoglycylglycin hat ein Molekulargewicht von 1213, ein von ABDERHALDEN (1) gewonnenes Peptid mit 19 Bausteinen das Molekulargewicht 1326, so daß man erwarten darf, bald mitten im Bereiche jener Polypeptide zu stehen, die bezüglich ihrer physikalischen Eigenschaften völlig den Proteinen entsprechen. Die Zahl der theoretisch möglichen Isomeren beträgt für ein Peptid von 18 Kernen schon 816, und würde für ein Protein von 30—40 Kernen und 4000 Mol.Gew. mehr als 4000 Quadrillionen betragen. In der Natur wird dies dadurch sehr eingeschränkt, daß nur Peptide einer optischen Form vorkommen (2). Schwierigkeiten bereitet die Beschaffung der verschiedenen optisch-aktiven Aminosäurekomponenten (3), welche direkt oder auf Umwegen mit Hilfe der WALDENschen Umkehrung über die Bromfettsäuren überwunden wurden. Oder man entfernte die nicht gewünschte Komponente racemischer Aminosäuren mittels Verarbeitung durch Hefe. Im allgemeinen vollzieht sich die Vereinigung zweier Aminosäuren glatt in der Weise, daß man die eine derselben in alkalischer Lösung mit dem Chlorid des Bromderivates der anderen Säure kuppelt, worauf mit Ammoniak das Bromprodukt in das Dipeptid übergeführt wird. ABDERHALDEN hat, worauf noch im folgenden Paragraph zurückzukommen sein wird, auch die Wirkung von Enzymen auf die Polypeptide verfolgt und hierbei besonders die Spaltung des Glycyl-l-Tyrosins als leicht verfolgbare Reaktion studiert. An Stelle dieses synthetischen Dipeptides ließ sich ein tyrosinreiches peptonartiges Produkt der Seidenhydrolyse, „Seidenpepton", gut verwenden. Trypsin, sowie Bacterienprotease nach SASAKI (4) spalten Glycyl-l-Tyrosin glatt auf. Tyrosinase greift auch die synthetischen Peptide des Tyrosins an. Die Reaktion von CHODAT mit Kresol-Tyrosinase wurde gleichfalls zum Nachweise von Peptiden verwendet (5).

Besondere Aufmerksamkeit haben wir hier jenen Befunden zu schenken, die sich auf den Nachweis verschiedener Polypeptide im Hydrolysengemisch

---

153, 1078 (1911). Soc. Biol. *71*, 546 (1911). Ann. Chim. et Phys., (9), *1*, 519; *2*, 210 (1914); *3*, 48; *4*, 225 (1915). Einführung von Guanidin: A. CLEMENTI, Gazz. chim. ital., *45*, II, 276 (1915). Hydantoine: JOHNSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 1087 (1916); Chem. News, *113*, 127 (1916). Synthese mit Cyanamid: CLEMENTI, Arch. di Farm., *22*, 274 (1916); mit Naphthalin statt Glycerin: BALBIANO, Accad. Linc. (5), *23*, I, 893 (1914): Verhalten der Polypeptide zu Neutralsalzen: P. PFEIFFER u. J. v. MODELSKI, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 329 (1912); *85*, 1 (1913). Kuppelung an Kohlenhydrate: H. FRIEDENTHAL, Biochem. Ztsch., *54*, 174 (1913). Polyglycinester: TH. CURTIUS, Ber. chem. Ges., *39*, 1379 (1906). Kombination mit Aldehyd („Peptale"): C. HARRIES u. PETERSEN, Ebenda, *43*, 634 (1910). Oxydation von Glycylglycin: L. POLLAK, Hofmeist. Beitr., *7*, 16 (1905). A. KRAEMER, Ber. chem. Ges., *39*, 4385 (1906). Glycincarbonsäure: H. LEUCHS, Ebenda, p. 857. Glutaminsäurehaltige Polypeptide: H. THIERFELDER, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 58 (1919); Cystinpeptide: ABDERHALDEN, Ebenda, *106*, 296 (1919); Pyrrolidonylpeptide: Ebenda, *107*, 1 (1919). Methyldipeptide: KOSSEL, Ebenda, *107*, 45 (1919).

1) E. ABDERHALDEN u. FODOR, Ber. chem. Ges., *49*, 561 (1916). — 2) EM. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *99*, 54 (1917); Sitz.ber. Preuß. Akad., 1916, p. 990. — 3) Künstlicher Aufbau v. opt.-akt. Aminoverbindungen: E. VLAHUTA, Pharm Zentr. Halle, *57*, 103 (1916). — 4) T. SASAKI, Biochem. Ztsch., *41*, 176 (1912). Vgl. auch A. CLEMENTI, Atti Acc. Linc. (5), *24*, 972 (1915). — 5) CHODAT u. KUMMER, Biochem. Ztsch., *65*, 392 (1914).

von natürlichen Eiweißkörpern beziehen (**1**). Um solche aufzufinden, ist natürlich das Kochen des Materials mit Säure zu vermeiden, und man läßt die Eiweißlösung mit starker HCl oder H_2SO_4 bei gewöhnlicher Temperatur einige Tage stehen. Die Fällung mit Phosphorwolframsäure nach Beseitigung der angewendeten HCl oder H_2SO_4 bietet den Vorteil, daß man die komplizierteren Verbindungen hierdurch von den im Filtrat verbleibenden abtrennt (**2**). Nach Zerlegung des Phosphorwolframniederschlages wendet man in der oben angegebenen Weise die Estermethode an, wobei die Polypeptidester im Destillationsrückstande verbleiben. Es gelang die Konstitutionsbestimmung der isolierten Peptide dadurch in hervorragender Weise zu ergänzen, daß man das Produkt in seine β-Naphthalinsulfoverbindung überführte. Bei der Behandlung mit Säure bleibt diese Bindung erhalten und man kann nun feststellen, welcher Art die endständige Gruppe des Polypeptides ist. Besonders lohnend gestaltete sich bisher die Untersuchung der Seidenhydrolyse (**3**), aus der drei Dipeptide, Glycinderivate von d-Alanin, l-Tyrosin und l-Leucin, hiervon das Alanylglycin in großer Menge, ferner ein Tripeptid, d-Alanylglycyl-l-Tyrosin, erhalten wurden, aber auch ein bereits albumosenartiges Tetrapeptid, das aus Glykokoll, Alanin und Tyrosin besteht und mit Ammoniumsulfat auszusalzen war. Elastin lieferte Alanylleucin, Glycylvalin und Alanylprolin (**4**) neben Leucylglycin. Aus Casein stellte SKRAUP (**5**) ein Leucylvalinanhydrid dar; ABDERHALDEN und FUNK (**6**) gewannen daraus außer dem ersten noch Phenylalanyl-d-Alaninanhydrid; DAKIN (**7**) Isoleucylvalinanhydrid. Von der tryptischen Verdauung der Gelatine gaben LEVENE und BEATTY (**8**) Glycylprolin als Intermediärprodukt an, während aus Ovalbumin von denselben Autoren aus dem tryptischen Verdauungsgemisch Glycyllysin isoliert wurde. Aus dem Dünndarmchymus endlich konnte ABDERHALDEN (**9**) ein Glycylphenylalanin isolieren. Weit spärlicher ist die Kenntnis von Polypeptiden aus pflanzlichen Eiweißkörpern. Hier ist bisher nur bei der Hydrolyse des Gliadins durch FISCHER (**10**) l-Leucyl-d-Glutaminsäure aufgefunden worden und ABDERHALDEN gelang es, bei der Hydrolyse des Edestins aus Baumwollsamen ein Tripeptid zu erhalten, welches aus Glykokoll, Leucin und Tyrosin bestand (**11**).

Diese Befunde machen es umso wahrscheinlicher, daß in den Eiweißstoffen die Formation von Imidoketosäuren in dem oben ausgeführten Sinne eine große Rolle spielt (**12**). Wenn auch damit einer der allerwichtigsten Punkte der Eiweißkonstitution geklärt zu sein scheint, so dürfen wir, wie

1) Methoden: ABDERHALDEN, Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 529 (1910). — **2**) Vgl. auch W. PITTOM, Biochem. Journ., *8*, 157 (1914). — **3**) E. FISCHER u. ABDERHALDEN, Berlin. Akad. 1907, p. 574; ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 315 (1909); *63*, 401 (1909); *65*, 417 (1910). ABDERHALDEN u. A. SUWA, Ebenda, *66*, 13 (1910); *72*, 1 (1911). FISCHER u. ABDERHALDEN, Ber. chem. Ges., *39*, 752 (1906); ebenda, 2315; *40*, 3544 (1907). — **4**) E. FISCHER u. ABDERHALDEN, Berlin. Akad. 1907, p. 574; ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 315 (1909). FISCHER u. ABDERHALDEN, Ber. chem. Ges., *39*, 2315 (1906); *40*, 3544 (1907). — **5**) ZD. SKRAUP, Monatsh. Chem., *29*, 791 (1908). — **6**) E. ABDERHALDEN u. C. FUNK, Ztsch. physiol. Chem., *53*, 19 (1907). — **7**) H. D. DAKIN, Biochem. Journ., *12*, 290 (1918). — **8**) P. A. LEVENE u. BEATTY, Journ. exp. Med., *8*, 461 (1906); Ber. chem. Ges., *39*, 2060 (1906). LEVENE, Ebenda, *43*, 3168 (1910). Biochem. Ztsch., *4*, 299 (1907). — **9**) E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 315 (1912). — **10**) E. FISCHER u. E. ABDERHALDEN, Ber. chem. Ges., *40*, 3544 (1907). Vgl. auch TH. B. OSBORNE u. S. H. CLAPP, Amer. Journ. Physiol., *18*, 123 (1908). — **11**) E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 373 (1909). — **12**) Vgl. auch P. W. LATHAM, Proc. Cambridge Phil. Soc., *14*, 537 (1908). Biochem. Journ., *3*, 207 (1909). Vielleicht waren SCHÜTZENBERGERS Leuceine und Glucoproteine damit im Zusammenhang. Vgl. ferner SKRAUP, Österr. Chem.-Ztg., *11*, 91 (1908). Monatsh. Chem., *29*, 791 (1908).

schon FISCHER mit Recht selbst hervorhob, nicht annehmen, daß damit alle Verkettungsformen im Eiweiß erschöpft seien. Es dürfte vielmehr darin eine ungeahnte Mannigfaltigkeit herrschen, und möglicherweise sind gerade darin wichtige Differenzen der natürlichen Proteine zu suchen. Bei der natürlichen Peptidsynthese dürften aus den Aminosäuren Aminoaldehyde gebildet werden, aus denen in verdünnter wässeriger Lösung die sogenannten SCHIFFschen Basen entstehen, die durch Oxydation Peptide liefern können. Jedoch hatten in dieser Richtung von PAULY (1) angestellte Versuche keinen völlig befriedigenden Erfolg. Daß im Eiweiß auch die Bindung von inneren Anhydriden CO-O vorkommt, glaubt BARDACH (2) daraus schließen zu dürfen, daß Eiweißlösungen wie andere Stoffe solcher Konstitution mit alkoholischer Jodoformlösung charakteristische nadelförmige Krystallisationen liefern.

Wie im weiteren nach KOSSELS Ausdrucksweise (3) „im großen Molekül der Eiweißstoffe kleinere Verbände existieren, die in sich ein festeres Gefüge besitzen und die deshalb bei jeder hydrolytischen Zersetzung der Eiweißkörper als Spaltungsprodukte auftreten", entzieht sich noch unserer Vorstellung. Auch FISCHER hält dafür, daß KOSSEL zu weit geht, wenn er für die Hexonbasen annimmt, daß sie den eigentlichen kompakten Kern der Eiweißstoffe darstellen. Besitzt auch das Eiweißmolekül eine gewisse feste Anordnung seiner Gruppen, so ist es deswegen noch nicht ausgeschlossen, daß bei unterschiedlichen Hydrolysen Differenzen bezüglich der Spaltungsprodukte in qualitativer und quantitativer Richtung vorkommen können (4). Wenn bei der tryptischen Verdauung eine Zunahme des Brechungsvermögens im Reaktionsgemische auftritt, die bei der peptischen Verdauung fehlt, so müssen damit noch nicht, wie OBERMAYER und PICK (5) annehmen, konstitutive Veränderungen bei dem ersteren Vorgange unterlaufen, da auch sekundäre Umsetzungen dafür verantwortlich gemacht werden können.

Ältere Theorien der Eiweißchemie, wie besonders jene von KRUKENBERG (6) und von O. LOEW (7), welche es in Abrede stellten, daß die Aminosäurereste im Eiweiß präformiert seien und annahmen, daß deren Neuentstehung einen Teilakt des Eiweißabbaues bilde, sind wohl kaum mehr so aktuell als daß sie einer neuerlichen Widerlegung bedürften. Auch die Theorie von SCHÜTZENBERGER (8), wonach die Eiweißstoffe komplizierte Oxamid- und Harnstoffderivate sind, hat nicht einmal mehr ein historisches Interesse. Die von BUCHNER und CURTIUS (9) einst vertretenen Anschauungen dürfen gleichfalls übergangen werden.

Erwähnt sei noch, daß Einwirkung von Trypsin sowohl das Präcipitin als die Präcipitin bindende Gruppierung der Eiweißstoffe zerstört (10).

---

1) H. PAULY, Ztsch. physiol. Chem., *99*, 161 (1917). ABDERHALDEN, Ebenda, *106*, 309 (1919). Aufspaltung des Diketopiperazinringes durch elektrolytische Reduktion zu α-Aminoaldehyden: HEIMROD, Ber, chem Ges. *47*, 338 (1914). — 2) BR. BARDACH, Chem.-Ztg., *35*, 934 (1911). — 3) W. KOSSEL, Deutsch. Med. Woch.schr. (1898), Nr. 7. Noch viel mehr Zurückhaltung ist geboten gegenüber den Ausführungen von HERZFELD u. KLINGER, Biochem. Ztsch., *99*, 204 (1919) über die Struktur und Artspezifität von Eiweißkörpern. — 4) Vgl. H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 540 (1902). — 5) J. OBERMAYER u. PICK, Hofmeist. Beitr., *7*, 331 (1905). — 6) KRUKENBERG, Zentr. Physiol. (1889), p. 689. — 7) O. LOEW, Pflüg. Arch., *31*, 393 (1883). Journ. prakt. Chem., *31*, 129 (1885). Chem.-Ztg., *20*, 1000 (1896); *29*, 604 (1905). Hofmeist. Beitr., *1*, 567 (1902). — 8) P. SCHÜTZENBERGER, Compt. rend., *106*, 1407 (1888); *112*, 198 (1891); *115*, 764 (1892). — 9) E. BUCHNER u. CURTIUS, Ber. chem. Ges., *29*, 850. — 10) OPPENHEIMER, Hofmeist. Beitr., *4*, 259 (1903).

§ 6.

Allgemeine Gesichtspunkte hinsichtlich der Eiweiß spaltenden Enzyme.

Außer der Würdigung der einzelnen bei Pflanzen vorgefundenen Eiweiß spaltenden Enzyme in chemischer und physiologischer Hinsicht, welche den verschiedenen Kapiteln der Organphysiologie vorbehalten bleibt, sind gemeinsame Gesichtspunkte bezüglich pflanzlicher und tierischer Protein spaltender Enzyme so reichlich vorhanden, daß eine allgemeine Behandlung derselben am Platze ist.

Das erstbekannte und in seiner Wirkung auf Pflanzenproteine viel studierte Ferment war das Pepsin der Magenschleimhaut der Säugetiere, welches 1836 durch SCHWANN (1) als katalytisches Agens erkannt worden ist. Magenpepsin verwandelt die Eiweißstoffe sehr schnell in Proteosen und Peptone. HERZOG und MARGOLIS (2) fanden einen großen Teil von Ovalbumin sofort unkoagulabel. Nach TOBLER (3) werden überwiegend (80%) Peptone gebildet, den Rest bilden Albumosen. Durch Tannin lassen sich die Proteosen bis auf Spuren abtrennen (4). Es ist wiederholt behauptet worden, daß bei protrahierter peptischer Verdauung nachweisbare Mengen von Leucin und Tyrosin abgespalten werden (5), doch konnten ABDERHALDEN und RONA (6) bei Verwendung reinen Magensaftes höchstens Spuren von Tyrosin nachweisen. Nicht zu vergessen ist, daß unter Umständen Enzyme aus dem Darm in den Magen übertreten können (7). Das Eiweiß spaltende Enzym der Bauchspeicheldrüse, von KÜHNE (8) als Trypsin bezeichnet, wurde durch CLAUDE BERNARD entdeckt (9). Dasselbe spaltet sofort aus Eiweiß reichlich Aminosäuren ab, von denen besonders die unlöslichen, Tyrosin und Leucin, leicht zur Kennzeichnung tryptischer Prozesse zu verwenden sind. Nach ABDERHALDEN (10) wird Tyrosin sofort, Glutaminsäure allmählich abgespalten, so daß man die fortlaufende Tyrosinbestimmung zur Kontrolle der Enzymwirkung benutzen kann (11). Die violette Reaktion mit Chlorwasser, die Tryptophanprobe, ist ebenfalls mit Vorteil zur Diagnose tryptischer Wirkungen zu benutzen. Im Gegensatze zum Pepsin wirkt Trypsin am

---

1) TH. SCHWANN, Pogg. Ann., *38*, 358 (1836). EBERLE, Physiol. d. Verdauung 1834, hatte bereits künstliche Verdauungsversuche angestellt, SPALLANZANI die eiweißlösende Wirkung des Magensaftes überhaupt zuerst festgestellt. PAYEN, Compt. rend., *17*, 654 (1843) wollte das Magenenzym „Gasterase" nennen. Pepsindarstellung: VOGEL, Journ. prakt. Chem., *28*, 28 (1843). Die freie HCl im Magensaft entdeckte bereits W. PROUT, Ann. Chim. et Phys. (2), *27*, 36 (1824). Über Pepsin K. GLAESSNER, Biochem. Zentr., *2*, Nr. 6 (1904). — 2) R. O. HERZOG u. M. MARGOLIS, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 298 (1909). — 3) L. TOBLER, Ebenda, *45*, 185 (1905). — 4) P. MEY, Ebenda, *48*, 81 (1906). Wirkung von Magenpepsin auf Pflanzeneiweiß vgl. A. STUTZER u. MERRES, Biochem. Ztsch., *9*, 127, 244 (1908). — 5) Vgl. LAWROW, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 513 (1898); *33*, 312 (1901); *40*, 165 (1903). LANGSTEIN, Hofmeist. Beitr., *1*, 507 (1902). Biochem. Ztsch., *5*, 410 (1907). — 6) E. ABDERHALDEN u. P. RONA, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 359 (1906). ABDERHALDEN, KAUTZSCH u. LONDON, Ebenda, *48*, 549 (1906). ABDERHALDEN, LONDON u. VOEGTLIN, Ebenda, *53*, 334 (1907). — 7) ABDERHALDEN u. FL. MEDIGRECEANU, Ebenda, *57*, 317 (1908). G. DORNER, Deutsch. Arch. klin. Med., *117*, 540 (1915). Vgl. auch BOURQUELOT u. HÉRISSEY, Journ. Pharm. et Chim. (7), *17*, 164 (1903). SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 545 (1902). — 8) KÜHNE, Verhandl. nat.med. Verein Heidelberg (1874), p. 194. — 9) CLAUDE BERNARD, Leçons d. phys. exp. (1855), p. 334. Trennung der Pankreasfermente durch fraktionierte Fällung mit Ammoniumsulfat: E. S. LONDON, C. r. Soc. Biol., *79*, 758. — 10) E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 159 (1905); *53*, 119 u. 315 (1907). — 11) S. J. M. AULD u. MOSSCROP, Journ. Chem. Soc., *103*, 281 (1913). Über die Wirkung auf Dijodtyrosin: A. OSWALD, Ztsch. physiol. Chem. *62*, 432 (1909).

besten in schwach alkalischem Medium. Auch für das Studium des Trypsins war es von höchster Wichtigkeit, ganz reines Drüsensekret ohne Beimischung von Darmsaft zu erhalten, wie es jetzt durch die von PAWLOW ausgebildete Technik der Anlegung von sicheren Fistelgängen bei den Versuchstieren möglich ist. Es ist an der einheitlichen Natur des Pankreastrypsins in neuerer Zeit gezweifelt worden, doch glaube ich, mit Unrecht (**1**).

Greifen diese beiden tierischen Proteasen, soweit bekannt, alle genuinen Eiweißstoffe an, so gibt es weitere Enzyme, die, wie zuerst COHNHEIM (**2**) zeigte, genuines Eiweiß unverändert lassen, wogegen sie lebhaft die Endprodukte der Pepsinverdauung, die Proteosen und Peptone hydrolysieren. Hierher gehört das Erepsin des Dünndarmsekretes. Man kennt nunmehr solche Enzyme nicht nur von Darm, sondern von den verschiedensten tierischen und pflanzlichen Geweben (**3**). Die Differenz bezüglich der angreifbaren Materialien zwischen Pepsin und Trypsin einerseits und Erepsin andererseits ist so bedeutungsvoll, daß ABDERHALDEN mit Recht daraufhin eine Gruppenteilung der Eiweißenzyme vorgenommen hat und proteolytische und peptolytische Enzyme unterscheidet. Es hat sich herausgestellt, daß die erepsinartigen Enzyme auch auf Polypeptide spaltend einwirken. Man kontrolliert dies am besten nach dem Vorgange von ABDERHALDEN (**4**) durch Anwendung optischaktiver Polypeptide und Verfolgung der Reaktion durch den Polarisationsapparat, oder man wendet Glycyl-l-Tyrosin bzw. Seidenpepton (**5**) an, welche rasch große Tyrosinmengen als Niederschlag absetzen, sobald sie angegriffen werden. Wie FISCHER und ABDERHALDEN näher zeigen, werden nicht alle Polypeptide durch die peptolytischen Enzyme angegriffen, sondern es hängt die Angreifbarkeit ebenso sehr von der Art wie von der Konfiguration und Zahl der Aminosäuren ab. Von Wichtigkeit ist die durch ABDERHALDEN und KOELKER festgestellte Tatsache, daß man bei passender Wahl von Tripeptiden durch den Sinn des Umschlages und die Intensität der Drehung bestimmen kann, an welcher Stelle das Peptid zuerst angegriffen wird (**6**).

Nach dieser Klärung der Fragen auf tierphysiologischem Gebiete war es in neuester Zeit eher möglich, einen Überblick über die pflanzlichen Proteasen zu erhalten, die früher nur unzureichend durch die Wirkungsintensität in saurer und alkalischer Lösung sowie durch die Bildung von Aminosäuren charakterisiert werden konnten. Am längsten war das proteolytische Enzym aus dem Milchsafte der Carica Papaya bekannt, das Papayin oder Papayotin, welches schon durch VAUQUELIN (**7**) unter-

---

1) Lit. L. POLLAK, Hofmeist. Beitr., *6*, 95 (1904). Arch. Verdau.krankh., *11*, 362 (1905). EHRENREICH, Ebenda, *11*, 3 (1905). K. MAYS, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 124, 188 (1906). FR. MARRAS, Arch. farm. sper., *16*, 299 (1914); Zentr. Bakt., I, *75*, 193 (1914). — **2**) O. COHNHEIM, Ztsch. physiol. Chem. *33*, 451 (1901); *35*, 134 (1902); *36*, 13. SALASKIN, Ebenda, *35*, 419. Biochem. Zentr. (1903), Ref. Nr. 112. KUTSCHER u. SEEMANN, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 432. EMBDEN u. KNOOP, Hofmeist. Beitr., *3*, 120 (1902). COHNHEIM, Biochem. Zentr. (1903), p. 169. H. M. VERNON, Journ. of Physiol., *32*, 33 u. *33*, 81 (1905). COHNHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 286 (1906); *49*, 64 (1906); *52*, 526 (1907). K. GLÄSSNER u. A. STAUBER, Biochem. Ztsch., *25*, 204 (1910). U. LOMBROSO, Arch. di Fisiol., *10*, 318 u. 462 (1912). E. RAUBITSCHEK, Ztsch. exp. Pathol., *4* (1907). — **3**) CLEMENTI, Atti Acc. Linc. (5), *25*, I, 183 (1916); Arch. di farm., *21*, 151, 462 (1916); Atti Acc. Torino, *25*, 187 (1916). — **4**) E. FISCHER u. E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 52 (1905). ABDERHALDEN u. A. H. KOELKER, Ebenda, *51*, 294 (1907). — **5**) Seidenpepton: E. ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ebenda, *59*, 230 (1909). — **6**) E. ABDERHALDEN u. KOELKER, Ebenda, *54*, 363; *55*, 416 (1908). — **7**) VAUQUELIN, Ann. de Chim., *43*, 267 (1802).

sucht worden ist. Das Enzym selbst wurde 1879 durch WITTMACK, sodann durch WURTZ und BOUCHUT (1) dargestellt, und in seiner Wirkung näher charakterisiert. Auch bei der Papainverdauung erhält man reichlich die für die Trypsinwirkung charakteristischen Endprodukte (2). Ähnlich verhält sich das gleichfalls schon lange bekannte Bromelin, welches in neuerer Zeit CALDWELL (3) untersuchte. Man lernte hierauf weit verbreitet in Milchsäften ähnliche Enzyme kennen, so bei Ficus, Artocarpus, worüber A. HANSEN (4) genauere Untersuchungen anstellte. Dazu kommen die merkwürdigen enzymatischen Eiweißverdauungsvorgänge der insectivoren Pflanzen, sowie die sehr häufige Befähigung von Bacterien und Pilzen, Eiweiß und Gelatine zu verflüssigen und in Aminosäuren überzuführen. Nachdem die meisten dieser Enzyme in saurer Lösung besser arbeiten als in alkalischer, so wie das Pepsin, andererseits aber weit verbreitet Aminosäuren als Endprodukte auftreten, so schien es nicht möglich die Parallelisierung mit Pepsin und Trypsin durchzuführen. Ein Fortschritt wurde, nach der Entdeckung des Darmerepsins auf tierphysiologischem Gebiete, durch die Arbeiten von VINES (5) erzielt, der ereptisch wirkende Enzyme weit verbreitet im Pflanzenreiche nachwies und annahm, daß oft proteolytische Wirkung durch eine Kombination eines pepsinartigen und eines erepsinartigen Enzyms hervorgerufen werde. In der Tat lassen sich so die beobachteten Erscheinungen gut erklären. Dazu kommt noch, daß ABDERHALDEN für Nepenthes und Drosera nachweisen konnte, daß Glycyl-l-Tyrosin durch die Enzyme dieser tierfangenden Pflanzen nicht angegriffen wird, weswegen man unbedingt hier ein Enzym nach Art des Magenpepsins anzunehmen hat (6). Steht hier die Abwesenheit peptolytischer Enzyme fest, so ist es in anderen Fällen nicht leicht, die Entscheidung zu fällen, ob es sich um ein proteolytisches Enzym nach dem Trypsintypus oder um ein Gemisch pepsinartiger und peptolytischer Enzyme handelt.

Ein weiterer, sehr bemerkenswerter und vielfach strittiger Enzymtypus ist das wohlbekannte Labenzym oder Chymosin des Säugetiermagens, welches das Milchcasein unter Ausscheidung eines unlöslichen Koagulates verändert (7). HAMMARSTEN hat 1872 zuerst die Wirkung des

1) WITTMACK, Botan. Ztg. (1878), p. 539; (1880), p. 143, 175 236; Naturf.-Versamml., Baden-Baden (1880), p. 221. A. WURTZ u. E. BOUCHUT, Compt. rend., *90*, 1379; *91*, 787 (1880). BOUCHUT, Ebenda, p. 67, 617. WURTZ, Ebenda, *93*, 1104 (1882). PECKOLT, Justs Jahresb. (1879), I, 392. S. H. MARTIN, Ber. chem. Ges., *18*, 576. ARATA, Just (1892), II, 374. OSSWALD, Münch. med. Woch.schr. (1894), p. 34; UMNEY, Just (1897), II, 38. WARGUNIN, Ebenda (1881), I, 53. PICKART, Zentr. Physiol. (1900), p. 351. E. ZUNZ, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *3*, 215 (1910). R. v. STENITZER, Biochem. Ztsch., *9*, 382 (1908). ADAMS, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 669 (1914). D. S. PRATT, Philippine Journ. Sci., *10*, A 1 (1915). HEYL, CARYL u. STALEY, Amer. Journ. Pharm., *86*, 542 (1914). Identität der Enzyme von Ficus carica u. Carica Papaya: DELEANO, Bull. Acad. Roman., *4*, 345 (1916). — 2) Vgl. KUTSCHER u. LOHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 383 (1905); D. JONESCU, Biochem. Ztsch., *2*, 177 (1906); DELEANO, Ann. sci. Univ. Jassy, *3*, 252 (1914); ebenda, *9*, 351 (1915); Bul. de Chim., *17*, 183. — 3) J. S. CALDWELL, Botan. Gaz., *39*, 407 (1905). — 4) A. HANSEN, Arbeit. Botan. Inst. Würzburg, *3*, 266 (1885). Artocarpus: PECKOLT, Just (1892), II, 411; Cucumis utilissima: GREEN, Ann. of Bot. (1892), p. 195. L. BUSCALIONI u. CL. FERMI, Annuario Ist. Bot. Roma, VII (1898). — 5) S. H. VINES, Ann. of Bot., *18*, 289 (1904). Linnean Soc. London General Meeting. Dez. 1904. Ann. of Bot., *19*, 171 (1905); *19*, 149 u. 171 (1905); *20*, 113 (1906); *22*, 103 (1908); *23*, 1 (1909); *24*, 213 (1910). — 6) ABDERHALDEN u. TERUUCHI, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 21 (1906). ABDERHALDEN u. C. BRAHM, Ebenda, *57*, 342 (1908); DERNBY, Biochem. Ztsch., *78*, 197 (1916). — 7) Vgl. die Monographie von FULD, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, 472 (1902). R. RAUDNITZ, Monatsschr. f. Kinderheilk., *4*, 559 (1906). WEIGMANN in Lafars Handb. d. techn. Mykol., *2*, 138 (1905).

Chymosins gegenüber der Milchgerinnung in der Milchsäuregärung scharf charakterisiert und reine Labenzympräparate hergestellt. Das Enzym spaltet das Casein (Caseinogen), das in der Form einer löslichen neutralen Kalkverbindung in der Milch vorkommt, wobei das Casein in ein anderes Nucleoalbumin, das Paracasein, übergeht, dessen unlösliche Kalkverbindung bei der Labung der Milch ausfällt. Das Paracasein enthält wohl noch den größten Teil des Caseinmoleküls, doch ist der Vorgang unzweifelhaft als eine partielle Hydrolyse aufzufassen. Ohne Gegenwart von Kalksalzen wird das Paracasein nicht ausgefällt. Oxalatzusatz macht die Milch ungerinnbar (1). Übrigens ist die Rolle des Labenzyms als eiweißspaltendes Agens und seine Stellung gegenüber den Präcipitinen noch nicht klargelegt (2). Neuere Arbeiten von PETRY, SPIRO und anderen Forschern (3) haben die schon von HAMMARSTEN geäußerte Ansicht bestätigt, daß es sich um Abspaltung von albumosenartigen Stoffen („Molkeneiweiß" von HAMMARSTEN) handeln dürfte, die man als Caseosen bezeichnete. Die Labenzyme der verschiedenen Haustiere sind different und genau auf das artspezifische Casein eingestellt (4). Sie wirken auf keinen anderen Eiweißstoff. Aus käuflichen Pepsinpräparaten von der Schweine-Magenschleimhaut hat BANG (5) ein vom gewöhnlichen Kälberlab verschiedenes Enzym, das Parachymosin, isoliert. Eine lebhafte Diskussion knüpfte sich an die zuerst von PAWLOW (6) vertretene Ansicht, daß die Labwirkung und die proteolytische Wirkung nur Teilwirkungen eines und desselben Enzyms seien. In der Tat gehen die Wirkungen von Pepsin und Lab einander im Magensafte auffallend und nach verschiedenen Richtungen parallel (7). Doch geben wieder die Versuche von SCHMIEDT-NIELSEN und jene von HAMMARSTEN (8) schwerwiegende Argumente zugunsten der Auffassung ab, daß es sich um zwei verschiedene Enzyme handelt, da man die labende Wirkung der Lösung durch Erwärmen über 40° ungleich stärker vermindern kann als die Pepsinwirkung; umgekehrt bleibt die Chymosinwirkung nach fraktionierter Fällung mit Bleiacetat oder mit Magnesiumcarbonat

1) Vgl. LEARY u. SHEIB, Journ. Biol. Chem., *28*, 393 (1917); J. SCHMIEDT-NIELSEN, Festschr. f. Hammarsten, Wiesbaden 1906. — 2) Vgl. FULD, l. c. KORSCHUN, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 366 (1902). — 3) EU. PETRY, Wien. klin. Woch.schr., *19*, 143 (1906); Hofmeist. Beitr., *8*, 339 (1906); E. LAQUEUR, Ebenda, *7*, 273 (1905); Zentr. Physiol., *19*, 316 (1905). H. REICHEL u. K. SPIRO, Hofmeist. Beitr., *7*, 485 (1905); *8*, 15 u. 365 (1906). M. VAN HERWERDEN, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 184 (1907). T. KIKOJI, Ebenda, *61*, 139 (1909). A. W. BOSWORTH, Journ. Biol. Chem., *15*, 231 (1913). Labferment im Pankreassaft: J. WOHLGEMUTH, Biochem. Ztsch., *2*, 350 (1906) Proteolyt. Natur d. Labwirkung: E. FULD, Internat. Beitr. z. Pathol. u. Ther. d. Ernähr.stör.: *5*, 104 (1913); B. SLOWTZOFF, C. r. Soc. Biol., *75*, 537 (1913); Abspaltung von N, P, Ca: A. HARDEN u. MACALLUM, Biochem. Journ., *8*, 90 (1914); BOSWORTH, Journ. Biol. Chem., *19*, 397 (1914). — 4) Vgl. K. KIESEL, Pflüg. Arch., *108*, 343 (1905). — 5) BANG, Ebenda, *79*, 425 (1900). — 6) J. P. PAWLOW u. S. W. PARASTSCHUK, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 415 (1904); ferner W. SAWJALOW, Ebenda, *46*, 307 (1905); SLOWTZOFF, Hofmeist. Beitr., *9*, 149 (1907). J. W. GEWIN, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 32 (1907). W. SAWITSCH, Verh. Ges. russ. Ärzte Petersburgs, *78*, 191 (1911); Ztsch. physiol. Chem., *55*, 84 (1908); *68*, 12 (1910). W. VAN DAM, Ebenda, *64*, 316 (1910); *86*, 77 (1913). — 7) Vgl. R. O. HERZOG, Ebenda, *60*, 306 (1909). MIGAY u. SAWITSCH, Ebenda, *63*, 405 (1909). C. FUNK u. A. NIEMANN, Ebenda, *68*, 263 (1910). W. VAN DAM, Zentr. Bakt., II, *44*, 89 (1915); C. PEKELHARING, Pflüg. Arch., *167*, 254 (1917); GRABER, Journ. Ind. Eng. Chem., *9*, 1125 (1917). — 8) S. SCHMIEDT-NIELSEN, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 92 (1906). O. HAMMARSTEN, Ebenda, *56*, 18 (1908); *68*, 119 (1910); *74*, 142 (1911). M. JACOBY, Ztsch. Biochem., *1*, 53 (1906). J. C. HEMMETER, Berlin. klin. Woch.schr., *42*, 14 (1905); A. E. TAYLOR, Journ. Biol. Chem., *5*, 399 (1909). A. E. PORTER, Journ. of Physiol., *42*, 389 (1911). VAN HASSELT, Ztsch. physiol. Chem., *70*, 171 (1910). A. RAKOCZY. Ebenda, *73*, 453 (1911); *84*, 329 (1913). O. HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 104 (1915); *102*, 33 (1918).

sehr kräftig, während die Pepsinwirkung vernichtet wird. Bisher ist es nicht gelungen eine Erklärung für diese Tatsachen zu finden, welche sie einwandsfrei mit der unitarischen Auffassung in Einklang bringen würde.

An das Labferment knüpfen sich weiter die interessanten Beobachtungen von Danilewsky und von Okunew, daß durch Lablösungen in Pepton- und Proteosenlösungen Niederschläge erzeugt werden, welche schon Danilewsky als eine Rückverwandlung der Verdauungsprodukte in koagulables Eiweiß ansprach. Sawjalow (1) hebt hervor, daß die intensivste Niederschlagsbildung durch Lab in primären Albumosen erzeugt wird, weniger in Deuteroalbumosen, am wenigsten in reinem Pepton. Er nannte die ausfallende Eiweißsubstanz Plastein. Kurajeff (2) zeigte, daß das Papaya-Enzym die analoge Wirkung hat, jedoch am stärksten bei den sekundären Albumosen. Auch bei Bacterienproteasen ist das Plasteinphänomen beobachtet worden (3). Neutralsalzzusatz begünstigt die Ausfällung (4). Die Bedeutung der Erscheinung ist viel besprochen worden, und nicht wenige Forscher haben sich zu gunsten der Auffassung ausgesprochen, daß es sich um Vorgänge synthetischer Richtung handelt (5). Besonders kommt hierbei der Ausfall der formoltitrimetrischen Prüfung in Betracht, die eine Verminderung der freien Aminogruppen ergab. Lawrow (6) meint angesichts des Charakters des Plasteinniederschlages, welcher weniger N und mehr C enthält, als das genuine Eiweiß, richtiger von Labalbumosen sprechen zu sollen, als einfach von Plastein. Auch der Ausdruck „Koagulosen" ist für diese Produkte gebraucht worden, und Lawrow hat mehrere Gruppen solcher Stoffe unterschieden. Levene und van Slyke sahen hingegen wenig Ähnlichkeit der Plasteine mit Proteosen (7). Elementaranalysen der Koagulosen hat Sawjalow geliefert (8), und Levene und van Slyke haben nach der Estermethode die Hydratationsprodukte quantitativ bestimmt (9).

Daß Labenzyme in Pflanzen vorkommen, wird schon von den alten griechischen und römischen Schriftstellern erwähnt; über das Enzym der Artischocken, die „Cynarase", besitzen wir aus älterer Zeit Untersuchungen von Parmentier und Deyeux (10). Auch das Pflanzenlabenzym findet sich häufig in Milchsäften, wie bei Ficus, Broussonetia und anderen Moraceen, Carica Papaya, Cynara, Papaveraceen und Asclepiadeen, wie Calotropis. Jedoch ist es in Galium, Cucurbitaceen, Solanaceen, Cruciferen, Ranunculaceen und anderen milchsaftfreien Pflanzen verbreitet und fehlt auch den Kryptogamen nicht, wie das Vorkommen bei Pilzen, Braunalgen und den Bacterien lehrt (11). Die tierfangenden Pflanzen

1) Sawjalow, Pflüg. Arch., *85*, 171 (1901). Zentr. Physiol., *16*, 625 (1903). — 2) D. Kurajeff, Hofmeist. Beitr., *1*, 121 (1902); *4*, 476 (1904). — 3) H. Kämmerer, Ztsch. Immun.forsch., *11*, 235 (1912). Vgl. auch A. Rakoczy, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 273 (1911). — 4) P. Glagolew, Biochem. Ztsch., *56*, 195 (1913). — 5) R. O. Herzog, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 305 (1903). Winogradow, Pflüg. Arch., *87*, 170 (1901). Grossmann, Hofmeist. Beitr., *6*, 192 (1904); *7*, 165 (1905). T. Br. Robertson, Journ. Biol. Chem., *3*, 95 (1907); *5*, 493 (1909). V. Henriques u. Gjaldbäk, Ztsch. physiol. Chem., *71*, 485 (1911); *81*, 439 (1912). P. Glagolew, Biochem. Ztsch., *50*, 162 (1913). J. Lukomnik, Hofmeist. Beitr., *9*, 215 (1907). F. Micheli, Arch. ital. Biol., *46*, 185 (1907). — 6) D. Lawrow, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 1 (1907); *53*, 1 (1907); *56*, 343 (1908); *60*, 520 (1909). — 7) Levene u. van Slyke, Biochem. Ztsch., *16*, 203 (1909). — 8) W. Sawjalow, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 119 (1907). — 9) Levene u. van Slyke, Biochem. Ztsch., *13*, 458 (1908). L. Rosenfeld, Hofmeist. Beitr., *9*, 215 (1907). — 10) Parmentier u. Deyeux, Crells Ann. (1793), I, 449. Beyträge z. Crells Ann., Bd. V, 4. Stück, p. 471 (1794). — 11) Allgemeines bei M. Javillier, Contribut. à l'étude de la Présure chez les Végét. Thèse Paris 1903. L. Buscalioni u. Cl. Fermi, Annuario

produzieren gleichfalls Labferment. Außer dem Artischockenferment, der Cynarase, wurde das Lab aus dem Feigenmilchsaft, die „Sykochymase" einer besonderen Benennung für würdig erachtet. Doch ist es durchaus unsicher, ob die bei verschiedenen Pflanzen nachgewiesenen chymosinartigen Enzyme tatsächlich verschieden sind, da die von GERBER verschiedentlich berührten Differenzen hinsichtlich Resistenz gegen höhere Temperaturen, gegen Säuren und gegen den Mangel der Gegenwart von Kalksalzen vielfach nur durch die ungleiche Zusammensetzung des Gemenges der begleitenden Stoffe verursacht sein können. Über die Verteilung des Labenzyms ist aus den Arbeiten von GERBER das Nähere zu ersehen. Besonders in Früchten, Blütenteilen ist Chymosin reichlich vorhanden, doch fehlte es gelegentlich selbst im Holze nicht. Viele Präparate waren ausgeprägt „calciphil", d. h. wurden durch Zutat von Calciumchlorid stark in ihrer Wirkung gefördert; doch ist z. B. das Ferment aus Maclura nur wenig kalkliebend, und für die Sycochymase war Kalk zur Wirkung nicht nötig (**1**). Daß gekochte Milch besser gelabt wird wie rohe Milch (**2**), erklärte man teils durch die Annahme eines Antilabs, teils durch die Eigenart der in der rohen Milch vorhandenen Eiweißkörper. Beachtenswert ist die Beobachtung von GERBER (**3**), wonach man Labferment von Fucus oder Broussonetiamilchsaft durch Verdünnen oder Ausdialysieren in der Weise zerlegen kann, daß dialysable Stoffe von einem nach Art von Globulinen beim Dialysieren ausfallenden, für sich nur sehr wenig wirksamen Körper getrennt werden können. Bringt man den in 5% NaCl gelösten Niederschlag mit dem Dialysat zusammen, so entsteht neuerdings ein wirksames Labpräparat. Ob es sich nur um Salze als Hilfsstoffe handelt, ist nicht klar entschieden worden.

Die Pflanzenchymosine sind vom Kälberlab bestimmt verschieden. Für die Cynarase wurde dies durch MORGENROTH mittels der Antifermenterzeugung klar gezeigt. Allgemein wird aber hervorgehoben, daß die Pflanzenchymosine ebenfalls nur auf Milchcasein einwirken. Eine Aus-

---

Istit. Botan. Roma, VII (1898); Cynareen und Centaureen: P. GIACOSA, Chem. Zentr. (1897), II, 1054; für Carthamus tinctorius. Cynarase: G. E. ROSETTI, Ebenda (1899), I, 131; Centaurea: C. GERBER, Compt. rend., *148*, 992 (1909); Soc. biol., *66*, 1122 u. 1125 (1909); Congr. Soc. Sav. Rennes 1909, p. 152; CASTEX, Ztsch. Kinderheilk., *5*, 244 (1912); Carica Papaya: POZERSKI, Compt. rend. Soc. Biol., *75*, 507 (1913). Cucurbitaceae: Sher. Lea Chem. News, *48*, 261 (1883); für Acanthosicyosfrüchte. Rubiaceae: GREEN, Nature, *38*, 274 (1888). GERBER, Compt. rend., *145*, 284 (1907). JAVILLIER, Ebenda, 380. Calotropis: GERBER u. FLOURENS, Ebenda, *155*, 408 (1912). Solanaceae: SH. LEA, GREEN, l. c. GERBER, Compt. rend, *149*, 137 (1909). Soc. biol., *67*, 318 (1909). Caricaceae: GERBER, Compt. rend., *148* 497 (1909). Soc. biol., *66*, 227 u. 716 (1909). Compt. rend., *149*, 459 (1910). Thymelaeaceae: GERBER, Soc. biol., *66*, 890 (1910). Papaveraceae: GERBER, Bul. Soc. Bot., *54*, p. VII (1907). Ranunculaceae: SH. LEA, l. c.; für Clematis: GERBER, Soc. biol., *64*, 519 (1908); für Helleborus. Ficus (Sykochymase): R. CHODAT u. E. ROUGE Zentr. Bakt. (II), *16* 1; Arch. Sci. Phys. Genève, *21*, 105 (1906). A. BRIOT, Compt. rend., *144*, 1164 (1907). GERBER, Soc. biol. 1907; *66*, 227 u. 716 (1909). Compt. rend., *155*, 56 (1912); Soc. biol., *74*, 1111, 1336 (1913). A. HANSEN, l. c. 1885. Broussonetia: C. GERBER, Compt. rend., *145*, 530 (1907). Soc. biol., *66*, 227 (1909). Compt. rend., *152*, 1611 (1911). Soc. biol., *74*, 1111, 1336 (1913). GERBER, Bull. Soc. Bot. (4), *60*, (1913). Cruciferae: GERBER, Compt. rend., *145*, 92 (1907). Soc. biol. 1907; Chem.-Ztg., *31*, 913 (1907). JAVILLIER, Compt. rend., *145*, 380 (1907). Phytolacea u. Ricinus: D. BRUSCHI, Atti Acc. Linc. (5), *16*, II, 360 (1907). — Pilze: GERBER, Compt. rend., *149*, 944 (1909). Soc. biol., *67*, 612 (1909); *68*, 201 (1910); Chem. Abstracts 1912, p. 3438. Braunalgen: GERBER, Soc. biol., *66*, 1122 (1909).

1) GERBER, Compt. rend., *148*, 56 (1909). CHODAT u. ROUGE, l. c. — **2**) A. BRIOT, Compt. rend., *144*, 1164 (1907); GERBER, Soc. biol. *64*, (1908). — **3**) C. GERBER, Compt. rend., *145*, 530 (1907); *147*, 601 (1908).

nahme bildet die Angabe von GERBER (1), wonach durch den Milchsaft von Euphorbia Eidotter bei 50° koaguliert wird.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß sich in Pflanzen noch andere eiweißkoagulierende Enzyme auffinden lassen. Für die Fibrinabscheidung aus dem Blut haben PEKELHARING und HUISKAMP (2) die Meinung aufgestellt, daß Nucleoproteide aus Blutplasma und Thymus imstande seien, unter Mithilfe von Kalksalzen die Fermentwirkung auszuüben. Für die Gerinnung des Muskeleiweiß jedoch ist Enzymwirkung noch zweifelhaft und ebenso für die der Fibrinbildung äußerlich ähnliche Bildung des pflanzlichen Klebers (WEYL und BISCHOFF) (3). Die Gerinnung des tierischen Mucins soll einigen neueren Angaben zufolge (4) gleichfalls durch ein besonderes Enzym, die Mucinase, hervorgerufen werden. Für Pflanzen ist ein solches Ferment unbekannt.

Die Nuclein spaltenden Enzyme sind entgegen früheren Ansichten (5) Eiweißenzyme besonderer Art, wie SACHS, ABDERHALDEN und andere (6) sicher zeigen konnten. Man faßt sie als Nucleasen zusammen. Ob man das Recht hat, für die Hydrolyse von Leim, Gelatine ein besonderes Enzym anzunehmen, darüber sind die Ansichten geteilt (7). Mir scheint es, als ob die Annahme einer besonderen „Glutinase" nicht gerechtfertigt wäre. Auch auf die Protamine scheinen keine anderen als die gewöhnlichen proteolytischen Fermente einzuwirken (8).

Die pflanzlichen Eiweißenzyme sind teils typische Sekretions- oder Ektoenzyme, teils typische Endoenzyme, so wie die tierischen Proteasen. Bezüglich der letzteren hat man erfahren, daß ihre Wirksamkeit bei den Versuchen sie von den Zellen abzutrennen, beträchtlich abnimmt (9).

Die oben erwähnten Erfahrungen mit optisch-aktiven Polypeptiden haben zur Evidenz erwiesen, daß für die Eiweißenzyme die Konfiguration ihres Substrates genau so wichtig ist, wie für die Kohlenhydratenzyme, so daß man durch beide Enzymgattungen häufig die optischen Antipoden aus racemischen Stoffen abtrennen kann. Lehrreich ist die Erfahrung von DAKIN (10), daß racemisiertes Casein durch Pepsin oder Trypsin nicht angegriffen wird. Fäulnisbacterien griffen zwar die racemische Caseose langsam an, nicht aber das racemisierte Casein. Die Frage der Spezifität hat FERMI (11) für pflanzliche und tierische Ektoproteasen dahin beantwortet, daß es sich um durchaus nicht spezifische Wirkungen auf verschiedene Eiweißarten handelt. Hingegen sind die im Anschluß an parenterale Einführung von Pflanzeneiweiß im Tierkörper gebildeten Fermente nach ISSATSCHENKO (12) spezifischer Natur. Nach KELLER (13) würde das Enzym aus Reiskleie auf tierisches Eiweiß nicht wirken. Für die Mazerationssäfte aus tierischen Organen ist die Frage noch nicht klar (14).

1) C. GERBER, Soc. biol., *74*, 53 (1913). — 2) Fibrinferment oder Thrombin: HAMMARSTEN, Ergebn. d. Physiol., I, 1, 339 (1902). PEKELHARING u. HUISKAMP, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 22 (1903). Biochem. Ztsch., *11*, 1 (1908). FULD, Biochem. Zentr. (1903), Nr. 4. — 3) TH. WEYL u. BISCHOFF, Sitz.ber. Erlangen phys.med. Soc. (1880). Ber. chem. Ges., *13*, 367 (1880). — 4) A. RIVA, Soc. biol., *59*, 711 (1905). NEPPI u. RIVA, Ebenda, *60*, 361 (1906). C. CIACCIO, Ebenda, 675; TRÉMOLIÈRES u. RIVA, Ebenda,, 690. — 5) M. NAKAYAMA, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 348 (1904). — 6) F. SACHS, Ebenda, *46*, 337 (1905). ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ebenda, *47*, 452 (1906). W. JONES u. C. R. AUSTRIAN, Ebenda, *48*, 110 (1906). — 7) P. HATTORI, Arch. internat. Pharmacodyn., *18*, 255 (1909). A. ASCOLI u. B. NEPPI, Ztsch. physiol. Chem., *56*, 135 (1908). — 8) Vgl. M. TAKEMURA, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 201 (1909). — 9) F. DAELS u. C. DELEUZE, Geneesk. Tijdschr. Belgie, *3*, 192 (1913). — 10) H. D. DAKIN u. H. W. DUDLEY, Journ. biol. Chem., *15*, 271 (1913). — 11) CL. FERMI, Zentr. Bakt., I, *72*, 401 (1914). — 12) ISSATSCHENKO, Deutsch. med. Woch.schr., *40*, 1411 (1914). — 13) FR. KELLER, Sitz.ber. phys.med. Soc. Erlangen, *46*, 57. — 14) Vgl. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem.,

Der Nachweis proteolytischer Wirkungen kann sehr oft ohne weiteres geführt werden durch die Lösung kleiner Flöckchen von Fibrin in der enzymhaltigen Flüssigkeit, doch ist es gut, bei noch unbekannten Verhältnissen den Versuch bei saurer, neutraler und leicht alkalischer Reaktion nebeneinander zu wiederholen. Auch aus verdünnten Lösungen adsorbieren Fibrinflocken so reichlich und schnell Protease, daß NEUMEISTER (**1**) gerade diese Methode rühmend hervorhob. Eine wesentliche Vervollkommnung war es, daß GRÜTZNER die Anwendung gefärbter Fibrinflocken einführte (**2**). Man gebraucht entweder Fibrin, welches mit Glycerin und „Spritblau bläulich" von BAYER, oder auch mit Kongorot oder Carmin vorbehandelt worden ist, und kann nun aus der in der Flüssigkeit auftretenden Färbung selbst quantitativ auf colorimetrischem Wege die Proteolyse kontrollieren. ABDERHALDEN (**3**) imprägnierte Elastin mit Säure und konnte damit ein Auffinden von Pepsin, welches allein das saure Elastin angreift, ermöglichen.

Um in Gewebestückchen, Schnitten usw. Proteasen nachzuweisen, führte FERMI (**4**) seine Carbolgelatine-Methode ein. Man konnte damit Trypsin bis zu Verdünnungen auf nahezu 2 Millionen nachweisen. Modifikationen sind durch Anwendung gefärbter Gelatine möglich (**5**). Auch Milchagar wurde angewendet (**6**). Eine Gruppe weiterer Methoden bedient sich der Aufhellung von feinen Eiweißsuspensionen durch die Wirkung von Proteasen, wodurch man gleichfalls sehr empfindliche Grenzreaktionen erhalten kann. So verwendete JACOBY (**7**) eine trübe Lösung von Ricin (1 g auf 100 ccm 1,5% NaCl); vielleicht noch besser läßt sich nach FULD (**8**) eine trübe Edestinlösung zu demselben Zwecke, auch für quantitative Bestimmungen gebrauchen. In dieselbe Kategorie von Methoden gehört die Caseinmethode von GROSS (**9**), sowie die von HATA (**10**) beschriebene Versuchsanordnung. Durch die Anwendung nephelometrischer Ablesungsmethodik läßt sich ein solches Verfahren sehr scharf gestalten (**11**). ABDERHALDEN (**12**) führte Seidenpepton, welches mit allen peptolytischen Körperenzymen reichliche Ausscheidungen von Tyrosin gibt, an Stelle des Glycyl-l-Tyrosin als diagnostisches Hilfsmittel ein. Die Triketohydrindenhydrat-Methode läßt sich qualitativ und quantitativ-colorimetrisch ausgedehnt benutzen (**13**).

91, 96 (1914); BRONFENBRENNER, Proc. Soc. Exp. Biol., *12*, 3 (1915); ebenda, 137. Zur Frage der „Abwehrfermente": H. STRAUSS, Fermentforsch., *1*, 55 (1914); PAQUIN, Ebenda, 58; OPPLER, Biochem. Ztsch., *75*, 211 (1916).

1) NEUMEISTER, Ztsch. Biol., *12*, 447 (1897). — **2**) W. WALDSCHMIDT, Pflüg. Arch., *143*, 189 (1911); H. E. ROAF, Biochem. Journ., *3*, 188 (1908). P. v. GRÜTZNER, Arch. di Fisiol., *7*, 223 (1910); HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *74*, 142 (1911). E. MERCK, Jahresber. 1905, p. 48. — **3**) E. ABDERHALDEN u. O. MEYER, Ztsch. physiol. Chem., *74*, 67 u. 411 (1911). — **4**) CL. FERMI, Zentr. Bakt. (II), *5*, 24 (1899); *16*, 176 (1906). Arch. Hyg., *55*, 140 (1906). — **5**) SCHOUTEN, Zentr. Bakt., II, *18*, 94 (1907). A. KANTOROWITZ, Münch. med. Woch.schr., *40*, 2496 (1912). — **6**) C. EIJKMAN, Zentr. Bakt., I, *19*, Nr. 22 (1901); II, *10*, 531 (1903). MANDELBAUM, Münch. med. Woch.schr., *56*, 2215 (1909). — **7**) M. JACOBY, Arbeit. pathol. Inst. Berlin 1906, p. 455; Biochem. Ztsch., *10*, 229 (1908). EINHORN, Berlin. klin. Woch schr., *45*, 1567 (1908). E. SOLMS, Ztsch. klin. Mediz., *64*, 159 (1907). — **8**) E. FULD u. LEVISON, Biochem. Ztsch., *6*, 473 (1907). A. FABINI, Gazz. Osped., *30*, 409 (1909); NEPPI, Boll. chim. farm., *54*, 289 (1915). Vgl. auch CARNOT u. MAUBAN, Compt rend. Soc. Biol., *81*, 340 (1918). — **9**) O. GROSS, Arch. exp. Path., *58*, 157 (1907). Berlin. klin. Woch.schr., *45*, 643 (1908). — **10**) S. HATA, Biochem. Ztsch., *23*, 179 (1909). — **11**) PH. A. KOBER, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 290 (1913). Journ. Biol. Chem., *13*, 485 (1913). Die Erepsinwirkung verfolgte mit Hilfe der Biuretreaktion colorimetrisch H. M. VERNON, Journ. of Physiol., *30*, 330 (1903). — **12**) ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ztsch. physiol. Chem., *61*, 421 (1909); *66*, 137 (1910). ABDERHALDEN u. STEINBECK, Ebenda, *68*, 312 (1910). Sogar anwendbar bei Endoenzymen: HIRSCH, Ztsch. physiol. Chem., *91*, 78 (1914). — **13**) HARDING u. MAC LEAN, Journ. Biol. Chem., *24*, 503.

Vines (1) fand die Tryptophanprobe als feines Reagens auf die Gegenwart peptolytischer Fermente. Die von Fischer und Abderhalden eingeführte polarimetrische Kontrolle der Proteolyse kann nicht nur für Polypeptide, sondern auch für bestimmte Eiweißstoffe, z. B. Casein, zur Untersuchung der Proteolyse Verwendung finden (2). Bemerkt sei, daß Volhard (3) speziell für die Pepsinbestimmung ein Säuretitrationsverfahren ausgearbeitet hat, und daß man schließlich einfach die in Lösung gegangene Stickstoffmenge nach Kjeldahl bestimmt als Maß der Proteolyse nehmen kann (4). Auch die einfache Biuretprobe leistet durch ihre Änderung des Farbentones zur Orientierung oft gute Dienste (5). Wenig wird derzeit die alte, von Wittich (6) gebrauchte Methode angewendet, dem Substrate das Ferment durch Glycerinextraktion zu entziehen.

Große Bedeutung hat für die quantitative Verfolgung verschiedener proteolytischer Vorgänge ein von Mett (7) ausgearbeitetes Verfahren erlangt, welches darin besteht, daß man Glasröhrchen, die mit koaguliertem Eiweiß beschickt sind, in die zu untersuchende Lösung bringt, und aus dem Grade des Abschmelzens, den man durch einfache Messung bestimmt, einen Rückschluß auf die Intensität der Proteasenwirkung zieht.

Kein tierisches oder pflanzliches Eiweißenzym ist bisher in sicher reinem Zustande dargestellt worden. Allerdings liegen Angaben vor, daß reine Präparate erhalten wurden, doch widersprechen sich dieselben sehr. Pekelharing (8) sah sich durch seine Untersuchungen veranlaßt, das Pepsin für phosphorhaltig und Xanthinbasen abspaltend anzusehen, und hielt es infolgedessen für ein Nucleoproteid. Nencki und Sieber (9) schrieben dem Magenpepsin eine noch viel kompliziertere Struktur zu als jene eines Nucleoproteids. Es soll noch Lecithingruppen und Chlor enthalten. Andererseits teilte wieder Friedenthal (10) mit, daß man Pepsinpräparate gewinnen kann, die nicht nur keine Nucleinreaktionen, sondern sogar keine Eiweißreaktionen mehr geben. Auch Lauder, Bbunton und Sundberg (11) wiesen darauf hin, daß die Eiweißreaktionen bei wirksamen Pepsinpräparaten fehlen können. Ferner zeigten aus Magenpreßsaft her-

1) S. H. Vines, Ann. of Bot., *17*, 237 (1903). — 2) Vgl. St. v. Bogdándy, Ztsch. physiol. Chem., *84*, 18 (1913). — 3) F. Volhard, Münch. med. Woch.schr. (1903), Nr. 49. W. Löhlein, Hofmeist. Beitr., *7*, 120 (1905). Küttner, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 63 (1907). Säuretitrierung: Launoy, Compt. rend. Soc. Biol., *81*, 742 (1918). — 4) J. O'Sullivan, Journ. Soc. Chem. Ind., *24*, 830 (1905). Sherman u. D. Neun, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 2199 (1916). — 5) Vgl. W. B. Cowie u. Dickson, Pharm. Journ. (4), *22*, 221 (1906); *24*, (1907). — 6) v. Wittich, Pflüg. Arch., *2*, 193 (1869); *3*, 339 (1870). Sulfosalicylsäure-Methode: Michaelis, Deutsch. med. Woch.schr., *44*, 685 (1918). — 7) Mett, Arch. Anatom. u. Physiol. (1894), p. 68. H. Meier, Berlin. klin. Woch.schr. (1906), Nr. 12. Nierenstein u. Schiff, Berlin. klin. Woch.schr. (1903), 268. Sailer u. Farr, Univ. Pennsylv. Med. Bull., *19*, 190 (1906). J. Christiansen, Biochem. Ztsch., *46*, 257 (1912). P. M. Cobb, Amer. Journ. Physiol., *13*, 448 (1905). Hattori, Arch. internat. Pharmacodyn., *18*. 255 (1909). Frühere Lit.: Samajlow, Arch. Sci. Biol., *2*, 699 (1894); E. Schütz u. H. Huppert, Pflüg. Arch., *80*, 470 (1900); J. Schütz. Ztsch. physiol. Chem., *30*, 1 (1900). E. Schütz, Ebenda, *9*, 577. Vernon, Journ. of Physiol., *26*, 405 (1901); J. Kaufmann, Biochem. Zentr., *2*, Ref. 815 (1904). Malfitano, Soc. biol., *56*, 33 (1904). Geselschap, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 205 (1915). — 8) Pekelharing, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 233 (1896); *35*, 8 (1902). Chem. Änderung bei der Reinigung von Pepsin ist relativ gering: Davis u. Merker, Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 221 (1919). — 9) Nencki u. Sieber, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 291 (1901). Schoumow-Simanowski, Arch. exp. Pathol., *33*, 336. Herlitzka, Atti Acc. Linc. (5), *13*, 51 (1904). — 10) Friedenthal, Zentr. Physiol. (1901), 785; (1902), p. 1. — 11) Lauder Brunton, Zentr. Physiol., *16*, 201 (1902). Sundberg, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 318 (1885).

gestellte Pepsinspecimina von SCHRUMPF (1) weder Eiweißreaktionen noch Labwirkung. DEZANI (2) hat sich wiederum zugunsten der Eiweißnatur des Pepsins geäußert. Nach DAVIS und MERKER (3) erreicht Pepsin bei fortgesetzter Reinigung die Eigenschaften eines Proteins, vielleicht Glucoproteins, mit steigender proteolytischer Aktivität. Die Meinung von SACHAROFF (4), daß Eiweißverbindungen bei proteolytischen Vorgängen eine wichtige Rolle spielen, wird durch nichts gestützt.

Das Trypsin ist viel weniger oft Reindarstellungsversuchen unterworfen worden. LEVENE (5) erklärt es für einen Eiweißstoff. Als MICHAELIS (6) die Trypsinfällung im isoelektrischen Punkt vornahm, erhielt er $^3/_4$ des Enzyms im Niederschlag; er gibt an, daß diese Hauptfraktion des Trypsins wesentlich HAMMARSTENS „α-Nucleoproteid" entsprach. Für das Labenzym nimmt SCALA (7) einen Albumosenkern und amidierte Seitenketten an. Noch viel weniger ist bezüglich der Pflanzenproteasen, selbst von deren beststudierten Vertreter, dem Papain, bekannt. Ungeklärt sind neuere Angaben über proteolytische Wirkung von Eiweißabbauprodukten (8).

Die Wirkung proteolytischer Enzyme ist außerordentlich groß. Nach PEKELHARING löst 0,001 mg Pepsin binnen einigen Stunden eine Fibrinflocke auf. Nach PETIT (9) hydrolysiert Pepsin in 7 Stunden das 500000fache seines Gewichtes an Fibrin. Chymosin setzt nach HAMMARSTEN die 400000 bis 800000fache Menge seines Eigengewichtes an Casein um. Einige Angaben hinsichtlich der Physikochemie der Proteasen haben allgemeines Interesse. Pepsin zeigt im elektrischen Feld anodische Wanderungsrichtung (PEKELHARING) (10). Nach MICHAELIS (11) ist die isoelektrische Konstante von Pepsin $1{,}5 \cdot 10^{-2}$, die auch das Optimum der Wirkung bezeichnet. Der isoelektrische Punkt liegt bei $5 \cdot 10^{9}$. Für Trypsin wurde der isoelektrische Punkt bei $1{,}35 \cdot 10^{-4}$ bestimmt. Für die Milchgerinnung bestimmten MICHAELIS und MENDELSOHN (12) das Optimum der Säurefällung des Caseins bei $2{,}5 \cdot 10^{-5}$ H., bei Kalkgegenwart $3 \cdot 10^{-4}$, und das Optimum der Labfällung mit $4 \cdot 10^{-7}$ bis $1 \cdot 10^{-6}$. Für pflanzliche Enzyme fehlen Angaben. Die Zerstörung von Pepsin durch elektrische Ströme hat BURGE verfolgt (13). Das Ultramikroskop bei der Beobachtung der Wirkung von Pepsin-Salzsäure ist in Versuchen von RUSSO (14) verwendet. Die viscosimetrische Methodik bei der Eiweißverdauung ist von großer Bedeutung, nachdem man hierdurch gleichfalls die Hydratation und Ionisierung des Eiweiß, welche für die Bildung der ersten Abbauprodukte von großem Einflusse sein muß, kontrolliert. Schon SPRIGGS (15) fand, daß die Viscosität des Verdauungs-

---

1) P. SCHRUMPF, Hofmeist. Beitr., *6*, 396 (1905). — 2) S. DEZANI, Atti Acc. Torino, *45*, 1910). HUGOUNENQ u. MOREL, Compt. rend., *147*, 212 (1908) fanden keine Pyrimidinbasen bei der Hydrolyse von Pepsin. ALDRICH, Journ. Biol. Chem., *23*, 339 (1915). — 3) L. DAVIS u. MERKER, Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 221 (1919). — 4) N. SACCHAROFF, Zentr. Bakt., I, *24*, 661 (1898). — 5) LEVENE, Zentr. Physiol. (1901), p. 285. Reinigung von Trypsin durch Adsorption: J. T. WOOD, Journ. Chem. Ind., *37*, 313 (1918). — 6) MICHAELIS u. H. DAVIDSOHN, Biochem. Ztsch., *30*, 481 (1911). Andere Versuche bei H. L. HOLZBERG, Journ. of biol. Chem., *14*, 335 (1913). — 7) A. SCALA, Staz. Spez. Agr. Ital., *40*, 129 (1907). — 8) Vgl. E. HERZFELD, Biochem. Ztsch., *64*, 103 (1914); *68* 402 (1915); *70*, 262 (1915); W. BIEDERMANN, Fermentforsch., *2*, 1 (1917). — 9) PETIT zit. bei NEUMEISTER, Lehrb. d. physiol. Chem., p. 176. Vgl. auch GRÜTZNER, Pflüg. Arch., *161*, 1 (1915). — 10) C. A. PEKELHARING u. W. E. RINGER, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 282 (1911). — 11) MICHAELIS u. DAVIDSOHN, Biochem. Ztsch., *28*, 1 (1910). Vgl. auch W. E. RINGER, Ztsch. physiol. Chem., *95*, 193 (1915). — 12) L. MICHAELIS u. A. MENDELSOHN, Biochem. Ztsch., *58*, 315 (1913). — 13) W. E. BURGE, Amer. Journ. of Physiol., *32*, 41 (1913). Die Pepsinwirkung wird durch das Solenoid nicht begünstigt: CH. F. LIFSCHITZ, Diss. Zürich (1911). — 14) PH. RUSSO, Arch. intern. de Physiol., *12*, 1 (1912). Ebenda, p. 316 (1914). — 15) SPRIGGS, Ztsch. physiol.

gemisches anfangs sehr rasch abnimmt. Durch 3—4stündiges Schütteln verliert Pepsin an Wirksamkeit (1). Mit den Adsorptionserscheinungen an proteolytischen Enzymen haben sich HEDIN, ABDERHALDEN, RAKUSIN u. a. (2) befaßt. Durch Holzkohle adsorbiertes Trypsin wird nur teilweise daraus durch Casein aufgenommen. Bei solchen Adsorptionen hat man grundsätzlich zwischen der reversiblen Aufnahme und der irreversiblen „Fixation" zu unterscheiden, bei welcher letzterer schon Denaturierung des Fermentes Platz greifen dürfte. Die Adsorption des Pepsins an Elastin und Fibrin (3) dürfte hingegen noch ein umkehrbarer Prozeß sein. Aber auch Adsorption der Fermente durch flüssige Kolloide dürfte eine Rolle spielen, indem HEDIN (4) sah, daß natives Serumalbumin Trypsin schon in sehr kleiner Menge unter „Verfestigung" neutralisiert. Hingegen wirkte das mit schwacher Essigsäure behandelte Albumin nur bei Anwendung großer Mengen. Die „Verfestigung" ist nur sehr wenig reversibel. Nach AMANTEA (5) ist die Bindung von Erepsin an Elastin und Fibrin im Vergleiche zum Pepsin sehr gering.

Eine Reihe den vorstehenden Daten analoger Ergebnisse erzielte man auch für das Labferment. Mit der Schüttelinaktivierung desselben befaßte sich SCHMIEDT-NIELSEN (6). Sie soll bis zu einem gewissen Grade reversibel sein, und wird durch ganz geringe Säuremengen verhindert. Bezüglich der Adsorption durch Kohle und der Wirkung von flüssigen Kolloiden hatten die Untersuchungen von HEDIN ganz ähnliche Ergebnisse wie sie vom Pepsin erwähnt wurden (7).

Die Untersuchungen über die Kinetik der proteolytischen und peptolytischen Enzymreaktionen erstrecken sich fast ausschließlich auf das Gebiet der tierischen Enzyme. Abgesehen von einigen älteren Untersuchungen (8) war die erste Arbeit von Bedeutung diejenige von SCHÜTZ (9), der die Pepsinwirkung durch polarimetrische Kontrolle der Peptonbildung verfolgte und dabei das bekannte Gesetz auffand, daß die Verdauungsgeschwindigkeit der Quadratwurzel aus den Enzymmengen direkt proportional ist. SJÖQVIST (10), welcher der erste war, der die Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit als methodisches Prinzip bei solchen Untersuchungen anwendete, erhielt für die Pepsinverdauung gleichfalls Werte, welche für den Anfang der Reaktion die SCHÜTZsche Regel als gültig erscheinen lassen. Nach den theoretischen Darlegungen von ARRHENIUS (11)

Chem., *35*, 465 (1902). Journ. of Physiol., *28*, Heft 1/2 (1902). J. CHRISTIANSEN, Biochem. Ztsch., *47*, 226 (1912). Vgl. auch H. W. BETTMANN u. SCHROEDER, Biochem. Zentr., *3*, Ref. 1625 (1905).

1) A. O. SHAKLEE u. MELTZER, Zentr. Physiol., *23*, 3 u. 4 (1909). — 2) C. S. HEDIN, Biochem. Journ., *2*, 81 (1907). Ztsch. physiol. Chem., *50*, 497 (1907). Vgl. auch M. WINCKEL, Münch. med. Woch.schr., *59*, 2734 (1912). E. BUCHNER u. KLATTE, Biochem. Ztsch., *9*, 436 (1908); RAKUSIN, Journ. russ. phys.chem. Ges., *47*, 141, 1048, 1055 (1915). ABDERHALDEN, Fermentforsch., *2*, 74 (1917). — 3) Vgl. ABDERHALDEN u. F. FRIEDEL, Ztsch. physiol. Chem., *71*, 449 (1911). — 4) S. G. HEDIN, Ebenda, *52*, 412 (1907). Über Kolloideinflüsse noch G. SIMONELLI, Arch. di Fisiol., *8*, (1911); KÜTTNER, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 472 (1907) über Lecithin. Bindung von Pepsin u. Trypsin an das Substrat: EDIE, Brit. med. Journ., 1914, p. 2803. Zustand des Substrates und Pepsinwirkung: RINGER, Kolloid. Ztsch., *19*, 253 (1916). Ultrafiltrations-Versuche zur Adsorptionstheorie: ABDERHALDEN u. FODOR, Fermentforsch., *2*, 225 (1918). Dialyse von Trypsin: C. FUNK, Journ. Biol. Chem., *26*, 121 (1916). — 5) G. AMANTEA, Arch. di Farm., *13*, 299 (1912). — 4) S. u. S. SCHMIEDT-NIELSEN, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 426 (1909); *68*, 317 (1910). — 7) S. G. HEDIN, Ebenda, *63*, 143 (1909); *60*, 85 (1909); *74*, 242 (1911). — 8) BRÜCKE, Sitz.ber. Wien. Ak., *27*, 131 (1859). GRÜNHAGEN, Pflüg. Arch., *5*, 203 (1872). — 9) E. SCHÜTZ, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 577 (1885). Bestätigt von BORRISSOW u. SAMAJLOW. — 10) J. SJÖQVIST, Skand. Arch. Physiol., *5*, 317 (1895). — 11) Sv. ARRHENIUS, Meddel. Nobel Inst., *1*, Nr. 9 (1908).

über die Bedeutung der SCHÜTZschen Regel ist es auch nicht zu erwarten, daß die Giltigkeit derselben über das erste Drittel der Reaktionszeit hinausgeht, da es Voraussetzung bleibt, daß die Menge der noch umzusetzenden Substanzmengen gegenüber den bereits umgewandelten sehr groß ist. Sehr weitgehend folgt aus den Ergebnissen von SJÖQVIST, daß die gespaltene Eiweißmenge der Quadratwurzel aus dem Produkte von Zeit und Enzymkonzentration proportional ist. Die folgenden Arbeiten haben aber durchaus nicht sicher die Bestätigung dafür erbracht, daß die SCHÜTZsche Regel ein allgemein geltendes Gesetz der Eiweißverdauung darstellt. So hat GROSS (1) für die Pepsinwirkung und FAUBEL (2) für die tryptische Verdauung Ergebnisse erhalten, die nicht für die Quadratwurzelregel sprechen, sondern vielmehr auf die auch sonst festgestellte Beziehung hinauslaufen, daß Fermentmenge und Wirkung einander einfach proportional sind. Hingegen wird in den Versuchen von K. MEYER (3) über Pepsinverdauung, ferner in den Versuchen von VERNON (4) über tryptische Verdauung von Fibrin, endlich aber auch in der einzigen größeren Untersuchung über eine pflanzliche Protease, in der Arbeit von WEIS (5) über das proteolytische Malzenzym, eine Übereinstimmung mit der SCHÜTZschen Regel gefunden. Für die Papainproteolyse fanden DELEZENNE und MOUTON (6) die SCHÜTZsche Regel gleichfalls bestätigt. Nach A. PALLADIN (7) soll für die tryptische Fibrinverdauung die SCHÜTZsche Regel nur dann gefunden werden, wenn man nicht für eine genaue Aufrechterhaltung gleichgroßer Berührungsflächen zwischen Enzym und Eiweiß Sorge trägt. Ist die Berührungsfläche stets genau gleich, so ergibt sich vielmehr eine Beziehung der Form, daß die verdaute Fibrinmenge proportional ist der dritten Wurzel aus dem Quadrate der Fermentmenge, also eine Annäherung an die einfache Proportionalität. DERNBY (8) fand als empirische Formel für enzymatische Eiweißspaltung $k = 1/\sqrt{t} \cdot \ln (a + x)/(a - x)$; die Konstanten verhalten sich annähernd wie die Quadratwurzeln aus den Zeiten. Sind also die Meinungen über diesen Punkt noch wenig geklärt, so geht aus vielen Arbeiten deutlich die Bedeutung einer allgemeinen Beziehung zwischen Zeit und Enzymmenge in der Form hervor, daß beide Größen für einen bestimmten Wirkungswert reciproke Werte darstellen, d. h. ihr Produkt eine Konstante darstellt. Es wird also nur die Menge des umgesetzten Eiweißes maßgebend sein, gleichgültig, ob der Umsatz durch wenig Enzym in langer Zeit oder durch viel Enzym in kurzer Zeit zustande kommt. Dies hat für Trypsin besonders HEDIN (9) ausgeführt.

Während HENRI und LARGUIER DES BANCELS (10) wenigstens den Anfang der Trypsinwirkung auf Eiweiß durch das unimolekulare Gesetz wiederzugeben meinten, findet BAYLISS (11) eine starke Abnahme der für unimolekulare Reaktion berechneten Konstanten. Angesichts der großen Schwierigkeiten, das Reaktionsgesetz der Eiweiß-Enzymhydrolysen experimentell festzustellen, wendete sich EULER (12) mit Recht zu der pepto-

1) GROSS, Berlin. klin. Woch.schr., *45*, 643 (1908). — 2) O. FAUBEL, Hofmeist. Beitr., *10*, 35 (1907). E. H. WALTERS, Journ. Biol. Chem., *11*, 267 (1912). — 3) K. MEYER, Berlin. klin. Woch.schr., *45*, 1485 (1908). — 4) H. M. VERNON, Journ. of Physiol., *26*, 421 (1901). — 5) WEIS, Meddel. Carlsberg Laborat., *5*, 127 (1903). — 6) C. DELEZENNE, MOUTON u. POZERSKI, Compt. rend., *142*, 177 1905). Soc. biol., *60*, 68, 39, 309. — 7) AL. PALLADIN, Pflüg. Arch., *137*, 337 (1910). — 8) K. G. DERNBY, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 425 (1914). Compt. rend. Carlsberg, *11*, 263 (1916). — 9) S. G. HEDIN, Journ. of Physiol., *32*, 468 (1905); *34*, 370 (1906). — 10) V. HENRI u. LARGUIER DE BANCELS, Compt. rend., *136*, 1088, 1581 (1903). — 11) BAYLISS, Arch. Sci. Biol., *11*, Suppl. Petersburg (1904). — 12) H. EULER, Ark. för Kemi, *2*, Nr. 39 (1907). Ztsch. physiol. Chem., *51*, 213 (1907). Sodann ABDERHALDEN u. MICHAELIS, Ebenda, *52*, 326 (1907).

lytischen Wirkung auf reine Polypeptide, und konnte für die Enzymspaltung des Glycylglycins und Alanylglycins unzweideutig finden, daß die Reaktion dem unimolekularen Verlaufe entspricht, sowie daß Fermentmengen und Wirkung in einfacher Proportionalität stehen. Für die Enzymversuche dürfte die Titrierung mit Formol nach SÖRENSEN weitgehender Anwendung fähig sein (**1**).

Für das Labferment existieren dieselben Fragen wie für die übrigen Eiweißenzyme. Hier ist schon 1870 durch SEGELCKE und STORCH (**2**) die Reziprozität zwischen Fermentmenge und Zeit für eine bestimmte Wirkungsintensität aufgefunden worden, und dies hat sich in den meisten Untersuchungen bestätigt (**3**). Hingegen ist die Behauptung von KOETTLITZ (**4**), daß für die Labwirkung die SCHÜTZsche Regel gilt, nicht weiter bestätigt worden.

Über die Wärmetönung bei proteolytischen Prozessen liegen Untersuchungen von HARI (**5**) hinsichtlich Pepsinverdauung vor, welche zu dem Ergebnisse kommen, daß hier ein Fall bedeutender positiver Wärmetönung vorliegt; dies steht im Gegensatze zu der sonst bei Hydrolysen begründet angenommenen Meinung, daß es sich durchwegs um Prozesse von geringer Wärmetönung handelt.

Für die Temperaturwirkung auf proteolytische und peptolytische Prozesse wird übereinstimmend angegeben, daß bei 37—40° das Optimum liegt. Doch wurde von KLUG und von OGURO (**6**) bereits bei 0° eine deutliche Wirkung durch Magenpepsin beobachtet, und CAMUS und GLEY (**7**) fanden Chymosin bei 10° wirksam. BICKEL (**8**) vermochte bei Pepsin durch Abkühlen auf —160° keine dauernde Unwirksamkeit zu erzielen. Bis 60° scheint beim Pepsin und Trypsin ein Ansteigen der Wirkung, jedoch unter schnellem Unwirksamwerden des Enzyms stattzufinden. Die Schutzwirkung von Kolloiden auf Proteasen bei höheren Temperaturen ist noch nicht völlig aufgeklärt (**9**). Bei 80° wird Magenpepsin rapid zerstört, und auch die Trypsinwirkung hört bei 75—80° schnell auf. Für Trypsinlösungen gab EDIE (**10**) an, daß sie bei saurer Reaktion noch nach dem Kochen nicht unbeträchtliche Wirkung zeigen, nicht aber bei neutraler oder alkalischer Reaktion. Relativ thermostabil ist das Papain, dessen Temperaturmaximum zwischen 80° und 95° liegt (**11**). Am widerstandsfähigsten sind anscheinend

---

1) Vgl. S. P. L. SÖRENSEN, Compt. rend. Carlsberg, *7*, 1 (1907). A. R. SMITH, Pharm. Journ. (4), *35*, 137 (1912). J. CHRISTIANSEN, Biochem. Ztsch., *46*, 50 (1912); ebenda, p. 71. HENRIQUES u. GJALDBAEK, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 363 (1911). Zur Frage der Vollständigkeit der Proteo- u. Peptolyse: ANDERSEN, Biochem. Ztsch., *70*, 344 (1915). Erepsinwirkung u. Formoltitrierung: F. E. RICE, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1219 (1915). Bei Erepsin spielt auch die Natur der Polypeptide außer der Fermentmenge mit: ABDERHALDEN u. FODOR, Fermentforsch., *1*, 533 (1916). — **2**) SEGELCKE u. STORCH, Ugeskrift for Landmaend (1870). — **3**) SOXHLET, Milchzgt. (1877). E. FULD, Hofmeist. Beitr., *2*, 169 (1902). REICHEL u. SPIRO, Ebenda, *7*, 485 (1905); *8*, 15 (1906). Für pflanzliches Labferment: G. GERBER, Soc. Biol., *63*, 575 (1907). — Hingegen bestreitet G. BECKER, Hofmeist. Beitr., *7*, 89 (1905) die Regel für das menschliche Labferment. Messung der Gerinnungsgeschwindigkeit: HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 119 (1914). — **4**) H. KOETTLITZ, Arch. intern. de Physiol., *5*, 140 (1907). — Labbestimmung: L. BLUM u. E. FULD, Berlin. klin. Woch.schr., *42*, 107 (1905). W. VAN DAM, Landw. Vers.-Stat., *78*, 133 (1912). — **5**) P. HARI, Pflüg. Arch., *121*, 459 (1908). — **6**) F. KLUG, Pflüg. Arch., *60*, 65 (1895); OGURO, Biochem. Ztsch., *22*, 278 (1909). — **7**) L. CAMUS u. GLEY, Compt. rend., *125*, 256 (1897). — **8**) A. BICKEL, Biochem. Zentr., *4*, Ref. 1020. — **9**) Vgl. K. OHTA, Biochem. Ztsch., *44*, 472 (1912). A. J. VANDEVELDE, Ebenda, *18*, 142 (1909). D. H. DE SOUZA, Journ. of Physiol., *43*, 375 (1911). — **10**) E. ST. EDIE, Biochem. Journ., *8*, 84 (1914). Schutzwirkungen: LOMBROSO, Arch. farm., sper., *18*, 404 (1914). — **11**) V. HARLAY, Journ. Pharm. et Chim. (6), *10*, 105

die Labenzyme; Bacterienchymosin wird bei 63—75° zerstört. Nach HANSEN verträgt das Chymosin des Ficus-Milchsaftes noch kurzdauerndes Kochen (1), und nach GORINI (2) wird das Labferment des Bacterium prodigiosum erst nach halbstündigem Sieden zerstört. Allerdings hat man dabei verschiedene Schutzwirkungen zu berücksichtigen, unter denen Salzgehalt bei den Labenzymen eine große Rolle zu spielen scheint (3). Besonders GERBER (4) hat in zahlreichen Studien den verschiedenen hemmenden Einfluß hoher Temperaturen auf pflanzliches Chymosin beleuchtet und gibt für BROUSSONETIA-Lab ein Maximum von 90° an, während Galiumlab schon bei 62° schwächer zu werden beginnt. Analogen Ergebnissen begegnen wir in der Arbeit von BRUSCHI (5), wo für Ricinus ein Maximum von 67°, für Ficus 95°, für Phytolacca eine Erniedrigung des Optimums mit Fortschritt der Vegetationsentwicklung von 55° auf 37° angegeben wird. Trockene Hitze vertragen, wie A. SCHMIDT, SALKOWSKI (6) und andere Autoren fanden, die meisten proteolytischen Enzyme ungeschädigt bis 100°. Nach FERMI und PERNOSSI (7) wird trockenes Trypsin erst bei 160° ganz unwirksam. Erepsin fand KOBZARENKO (8) bei 58° zerstört.

Welche ungemein große Bedeutung die Gegenwart bestimmter Konzentrationen von Wasserstoffionen auf die Wirkung proteolytischer Enzyme haben kann, ist seit alten Zeiten vom Magenpepsin wohl bekannt. Ebenso weiß man schon seit der ersten Bekanntschaft mit Trypsinwirkungen, daß dieselben bei leicht alkalischer Reaktion am intensivsten sind. Bei pflanzlichen Proteasen sind im allgemeinen die Grenzen durch ein Übermaß von saurer und alkalischer Reaktion nicht so eng gezogen, und viele Wirkungen äußern sich sehr gut bei neutraler Reaktion. So scheint auch nach den Versuchen von ČELAKOVSKÝ an Myxomycetenplasmodien die Reaktion des Vacuolensaftes auf die Eiweißverdauung innerhalb derselben keinen besonderen Einfluß zu besitzen (9).

Die Rolle der Salzsäure bei der Pepsinwirkung hat zu manchen interessanten Diskussionen Anlaß gegeben, und man kann noch nicht sagen, daß alle Punkte aufgeklärt wären. Daß freie H·-Ionen zur Pepsinwirkung nicht nötig seien, wie SCHÜTZ (10) annahm, wird von vielen anderen Forschern bestritten, und die am besten begründete Ansicht ist die, daß die Wirkungen der Säure und des Pepsins parallel gehen, jedoch die Säurewirkung bedeutend schwächer sei, als die Fermentwirkung (11). Das Säureoptimum wurde früher meist zwischen 0,2—0,4% HCl angegeben, doch hängt nach den Untersuchungen von A. MÜLLER (12) das Optimum von der Eiweißkonzentration ab und liegt höher, wenn die Substratkonzentration größer ist. Dies hängt offenbar mit der durch ROHONYI nachgewiesenen Bindung der H·-Ionen durch die Spaltungsprodukte zusammen. Die verschiedenen Säuren

---

(1899). E. POZERSKI, Ann. Pasteur, *23*, Heft 3 (1909). Contrib. à l'étude de la papaine. Sceaux 1908.

1) A. HANSEN, l. c. 1885. — 2) GORINI, Zentr. Bakt., I, *12*, 666. — 3) Vgl. M. SIEGFELD, Milchwirtsch. Zentr., *3*, 426 (1907). — 4) C. GERBER, Compt. rend., *145*, 92 (1907); ebenda, 284, *147*, 1320 (1908); *148*, 124 (1909). Soc. Biol., *65*, 739; *66*, 1222; *67*, 318 (1909); *74*, 1336 (1913). — 5) D. BRUSCHI, Atti Acc. Linc. (5), *16*, II, 360 (1907). — 6) A. SCHMIDT, Zentr. med. Wiss. (1876), Nr. 29. SALKOWSKI, Virch. Arch., *70*, 158. — 7) FERMI u. PERNOSSI, Zentr. Bakt., *15*, 229 (1894). — 8) S. KOBZARENKO, Biochem. Ztsch., *66*, 344 (1914). — 9) L. CELAKOVSKY jun., Flora 1892, Erg.bd., p. 237. — 10) J. SCHÜTZ, Wien. klin. Woch.schr., *44* (1907); Biochem. Ztsch., *22*, 33 (1909). — 11) E. ABDERHALDEN u. STEINBECK, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 293 (1910). H. ROHONYI, Biochem. Ztseh., *44*, 165 (1912). — 12) A. MÜLLER, Arch. klin. Med., *88*, 522 (1907); *94*, 27 (1908). Wirkung gebundener HCl im Chlorhydrat von Betain und Glutaminsäure: J. H. LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1333 (1915).

wirken, wie vorauszusehen, im allgemeinen parallel ihrer elektrolytischen Dissociation, d. h. das Wasserstoffion ist das wirksame Agens (1). OKADA (2) findet die optimale Reaktion für Pepsin bei $4 \cdot 10^{-2}$, für das proteolytische Enzym im Takaferment $8{,}5 \cdot 10^{-6}$, RINGER (3) für Pepsin bei $p_H = 1{,}9$. Es ist eine in neuerer Zeit von mehreren Seiten (O. LOEB, CHRISTIANSEN, MICHAELIS) (4) geäußerte aussichtsvolle Hypothese, daß bei den Fermentwirkungen die ionisierten Anteile der Enzyme, deren Eigenschaften wir etwa dem ionisierten Eiweiß vergleichen können, das wirksame Agens seien und nicht die Fermentmolekel. So würden sich sehr einfach die fördernden Wirkungen von Säuren oder Alkalien auf die Enzymwirkungen als ionisierende Einflüsse erklären lassen Auch muß die Ionisierung des Substrateiweißes für die Bildung der ersten Abbauprodukte eine große Bedeutung haben, da allgemein mit der Ionisierung eine Viscositätsabnahme und Quellungszunahme verbunden ist. Bei der Labgerinnung findet kein Verbrauch von H˙-Ionen statt (5). Kleine Säuremengen unterstützen sowohl die Wirkung von Kälberlab (6) als auch pflanzliche Chymosinwirkungen. Doch scheinen bei den letzteren nach GERBER (7) manche Komplikationen vorzuliegen, so daß auch der umgekehrte Effekt: Hemmung durch kleinere und Förderung durch größere Säuredosen herauskommen kann. Das nach GREEN (8) gleichfalls durch Säure geförderte Enzym von Drosera und Nepenthes ist in neuerer Zeit nicht mehr dahingehend geprüft worden.

Sowohl Pepsin als Magenlab wird sehr leicht durch alkalische Reaktion angegriffen, und es gelingt nur sehr wenig das Pepsin durch nachträgliches Ansäuren wieder zu retten (9). Das Pankreastrypsin wirkt am besten in schwach alkalischer Lösung, entsprechend 0,2 bis 0,4% Na_2CO_3. KANITZ (10) fand die optimale Alkalescenz entsprechend $^1/_{70}$—$^1/_{200}$ n OH'-Ionen. Nach LONG und HULL (11) liegt für die tryptische Fibrinverdauung das Optimum bei einer H˙-Konzentration von $1 \cdot 10^{-8}$ bis $5 \cdot 10^{-9}$. Nach PALITZSCH und WALBUM liegt das Optimum bei niederer Temperatur der Neutralität näher als bei höheren Temperaturen (12). BOSTOCK (13) gibt als

1) LARIN, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 1043. HÜBNER, Fortschr. Mediz., *12*, 163 (1894). M. HAHN, Virch. Arch., *137*, 597 (1894). WROBLEWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 1 (1895). STUTZER, Landw. Vers.stat., *38*, 257 (1891). KLUG, Pflüg. Arch., *65*, 330 (1896). DISDIER, Journ. Pharm. et Chim., (6), *18*, 594 (1903); *21*, 5 (1905). LAWROW, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 447 (1905). N. P. TICHOMIROFF, Biochem. Zentr., *5*, 601 (1906). Simultanwirkung verschiedener Säuren: W. N. BERG u. W. J. GIES, Journ. biol. Chem., *2*, 489 (1907). — 2) S. OKADA, Biochem. Journ., *10*, 126 u. 130 (1916). — 3) W. E. RINGER, Arch. néerland. Physiol., *2*, 571. — 4) J. LOEB, Biochem. Ztsch., *19*, 534 (1909). MICHAELIS u. DAVIDSOHN, Ebenda, *36*, 280 (1911). J. CHRISTIANSEN, Ebenda, *47*, 226 (1912). „Vermittlerrolle" des Fermentes zwischen Fibrin und Säure: H. LEO, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 286 (1905). — 5) O. ALLEMANN, Biochem. Ztsch., *45*, 346 (1912). — 6) PFLEIDERER, Pflüg. Arch., *66*, 605 (1897). W. VAN DAM, Ztsch. physiol. Chem., *61*, 147 (1909); *58*, 295 (1909). MICHAELIS u. MENDELSOHN, Biochem. Ztsch., *65*, 1 (1914). — 7) C. GERBER, Compt. rend., *146*, 1111 (1908). Soc. biol., *64*, 783, 982, 1176 (1908). — 8) R. GREEN, Phil. Trans. Roy. Soc., *178*, 39 (1887). Ann. of. Bot., *7*, 112. — 9) N. P. TICHOMIROW, Ztsch. physiol. Chem., *55*, 107 (1908). NAGAYO, Zentr. Physiol., *7*, 499 (1893). Lab: A. H. MOSELEY, Proc. Linn. Soc. N. S. Wales, *31*, Pt. 4 (1906). LANGLEY, Journ. of Physiol., *3*, 259 (1893). Empfindlichkeit gegen Alkali: HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 291 (1915). LÉNARD, Biochem. Ztsch., *60*, 43 (1914). — 10) A. KANITZ, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 75 (1902). — 11) J. H. LONG u. HULL, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1051 (1917). — 12) Sv. PALITZSCH u. L. E. WALBUM, Compt. rend. Carlsberg, *9*, 200 (1912). Biochem. Ztsch., *47*, 1 (1912). — 13) G. D. BOSTOCK, Ztsch. physiol. Chem., *85*, 471 (1913). Zerstörung von Trypsin in alkalischer Lösung: MELLANBY u. WOOLLEY, Journ. of Physiol., *48*, 287 (1914).

das Optimum für die Pankreasverdauung 1,2—1,8% Soda an. Nach ROBERTSON wird bei der Trypsinwirkung die OH'-Konzentration ähnlich geändert, wie die H˙-Konzentration bei der Pepsinwirkung (**1**). Die Auffassung der tryptischen Verdauung als Wirkung des ionisierten Anteiles des Enzyms hat MICHAELIS (**2**) näher ausgeführt und gezeigt, daß die Wirkung genau dem Anionengehalt der Enzymlösung entspricht, so daß man nur die Trypsinanionen als das wirksame Agens betrachten kann. Denselben Nachweis haben RONA und ARNHEIM für das Erepsin geführt (**3**). Nach EULER (**4**) vermehren die OH'-Ionen die Reaktionsgeschwindigkeit der peptolytischen Enzyme und verhindern die Hemmung durch die Reaktionsprodukte. Das Papain ist gegen Alkali viel empfindlicher als Trypsin, doch ist auch hier nach SACHS (**5**) alkalische und neutrale Reaktion für die rasche Wirkung bei höherer Temperatur günstiger als die saure. Jene Säurekonzentrationen, die das Optimum für Pepsin darstellen, verhindern die Papainwirkung ganz (**6**). Das gleiche scheint für Bromelin zu gelten (**7**).

Planmäßige Feststellungen über den Einfluß von Elektrolyten aus der Reihe der Neutralsalze wären für tierische und pflanzliche Proteasen sehr erwünscht. Aktivierende Wirkungen sind mehrfach beobachtet. So wirken Phosphate aktivierend auf proteolytische Enzyme (**8**), ebenso auf die Wirkung pflanzlicher Chymosine nach GERBER (**9**). Hingegen wurde eine verzögernde Wirkung von Alkaliphosphaten auf die Wirkung tierischen Labfermentes gefunden. GERBER berichtete sodann auch über Labungsförderung durch Natriumsulfat und Natriumchlorid (**10**). Wie das von MALFITANO (**11**) beobachtete Phänomen aufzufassen ist, daß Kochen mit NaCl die Verdaulichkeit festen Eiweißes fördert, ist zweifelhaft. Natriumfluorid beschleunigt nach GERBER (**12**) die Pflanzenlabwirkung ebenso stark wie Chlorid, doch fehlt diese Wirkung nach VANDEVELDE (**13**) bei Pepsin und Trypsin. Gut bekannt ist die durch ZUNZ, DELEZENNE (**14**) und andere Forscher studierte Aktivierung von Pankreasferment durch Calcium- und Magnesiumsalze. Dieselbe erfolgt in sehr geringen Konzentrationen und ist offenbar mit Ionenadsorption verbunden. Die Labwirkung fand BRIOT (**15**) durch kurzdauerndes Einleiten von CO_2 ebenso wie durch 0,02% $CaCl_2$ stark beschleunigt.

Die allgemein zu beobachtende Fermenthemmung durch größere Salzkonzentrationen ist natürlich eine Löslichkeitsveränderung. LEVITES (**16**) untersuchte dieselbe für Pepsin und fand, daß wie bei Eiweiß der Einfluß der Salzanionen stark hervortritt. Pepsin wird erst durch 20% NaCl voll-

---

1) T. BR. ROBERTSON u. SCHMIDT, Journ. Biol. Chem., *5*, 31 (1908). — **2**) L. MICHAELIS u. H. DAVIDSOHN, Biochem. Ztsch., *30*, 481 (1911). — **3**) P. RONA u. F. ARNHEIM, Ebenda, *57*, 84 (1913). — **4**) H. EULER, Ark. för Kemi, *2*, Nr. 39 (1907). — **5**) FR. SACHS, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 488 (1907). — **6**) J. R. RIPPETOE, Journ. Industr. and Eng. Chem. (1912), p. 517. — **7**) J. S. CALDWELL, Botan. Gaz., *39*, 407 (1905). Auch das Enzym des Calotropis-Milchsaftes wirkt in alkalischer Lösung besser als in neutraler: GERBER u. FLOURENS, Compt. rend., *157*, 600 (1913). — **8**) A. FERNBACH u. M. SCHOEN, Compt. rend., *153*, 133 (1911). — **9**) C. GERBER, Soc. biol., *64* (1908); A. ZIMMERMANN, Journ. Ind. Eng. Chem. (1912), p. 506. — **10**) C. GERBER u. S. LEDEBT, Compt. rend., *145*, 577 (1907). — **11**) G. MALFITANO, Ebenda, *141*, 912 (1905). Leichtere tryptische Verdauung gekochten Eiweißes fand BIZARRO, Journ. of Physiol., *46*, 267 (1913); doch greift Pepsin ungekochtes leichter an. — **12**) C. GERBER, Compt. rend., *145*, 689 (1907). — **13**) A. J. VANDEVELDE u. POPPE, Biochem. Ztsch., *28*, 134 (1910). Über Fluorid ferner: FREUDENREICH, Kochs Jahresber. (1893), p. 291. ARTHUS u. HUBER, Compt. rend., *115*, 839. — **14**) E. ZUNZ, Bull. Soc. Roy. Bruxell., *64*, 28, 198 (1906); C. DELEZENNE, Compt. rend., *141*, 914 (1905); *144*, 388 (1907). — **15**) A. BRIOT, Journ. de Physiol., *9*, 784 (1907). Vgl. auch MELLANBY, Journ. of Physiol., *45*, 345 (1912). — **16**) S. LEVITES, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 187 (1906).

ständig gehemmt (**1**). Bei der Hemmung der Trypsinwirkung durch Salze fand KUTO (**2**) die lyotrope Anionenreihe wieder, und Sulfate wirkten am stärksten. Bezüglich der Polypeptasen liegen Angaben von ABDERHALDEN (**3**) vor. Die Wirkung von Erdalkalihydroxyden auf Trypsinverdauung wurde durch DIETZE (**4**) geprüft. Daß Schwermetallsalze als eiweißfällende Agentien auf Proteolyse stark hemmend wirken, ist eine altbekannte Sache und besonders über die Wirkung verschiedener Schwermetallverbindungen auf die Labwirkung liegen genaue Angaben von GERBER und früher schon von BOKORNY vor (**5**). Arsenite und Arsenate scheinen keinen nennenswerten Einfluß zu haben (**6**). Borsaure Salze hemmen wohl nur durch ihre hydrolytische Spaltung. Die Hemmung durch Wasserstoffperoxyd hat GERBER (**7**) am Labferment verfolgt. Bei LAQUEUR und BRÜNECKE (**8**) sind Angaben über die Wirkung von Gasen, Sauerstoff unter erhöhtem Druck und Kohlensäure (N-Gas war ohne jede Wirkung), auf das Labferment einzusehen.

Von der Wirkung organischer Stoffe auf proteolytische Fermentprozesse muß zunächst der Wirkung der Narkotika gedacht werden. Alkoholzusatz zum Verdauungsgemische hemmt (THIBAULT) (**9**); auch wird Pepsin beim Stehen unter absolutem Alkohol langsam unwirksam. Praktisch wichtig ist es, daß Äther, Chloroform nach den übereinstimmenden Angaben von LAURÈN, DUBS, FERMI, DELEZENNE, KAUFMANN und anderen Autoren (**10**) unzweifelhaft hemmend wirken. Dem letztgenannten Autor zufolge hemmt 24stündige Einwirkung von Chloroformwasser eine 0,1%ige Trypsinlösung noch deutlich und verhindert die Wirkung einer 0,02%igen Lösung gänzlich. Toluol ist etwas weniger schädlich. Die beim Pepsin beobachtete Wirkungshemmung durch freie Aminosäuren beruht nur auf Bindung von Salzsäure durch dieselben (**11**). Schädigung ist ferner bekannt durch Thymol, manche Alkaloide, Formaldehyd, Blausäure, Terpene, ätherische Öle, Anilinfarben usw. (**12**). Papainwirkung soll jedoch durch Blausäure beschleunigt werden (**13**).

---

1) W. N. BERG, Chem. Abstr. (1912), p. 3098. W. HAMBURGER, Arch. Int. Med., *16*, 356 (1915). — **2**) T. KUDO, Biochem. Ztsch., *15*, 473 (1909). — **3**) E. ABDERHALDEN, CAEMMERER u. PINCUSSOHN, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 293 (1909). Über Neutralsalzwirkung noch: PETERS, Diss. Rostock 1894 (Lab). F. KRÜGER, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 1044. NEUMEISTER, Lehrbuch (1897), p. 245. WEITZEL, Arb. Kais. Gesunndh.-Amt, *19*, 126 (1902). MAYS, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 495 (1903). J. SCHÜTZ, Hofmeist. Beitr., *5*, 406 (1904). Trypsin: H. R. WEISS, Ztsch. physiol. Chem., *40*, 480 (1903). — **4**) DIETZE, Chem. Zentr., 1902, I, 328. — **5**) C. GERBER, Soc. Biol., *68*, 937 (1910); *69*, 102 u. 215 (1910); ebenda, 211, 213, 106; Compt. rend., *150*, 1357 (1910). TH. BOKORNY, Chem.-Ztg., 1901, Nr. 1. — **6**) SCHÄFER, Verhandl. Würzb. phys. med. Soc. (1872), p. 238. — **7**) GERBER, Soc. Biol., *72*, 881, 946, 1002 (1912). — **8**) E. LAQUEUR u. K. BRÜNECKE, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 239 (1912). — **9**) THIBAULT, Journ. Pharm. et Chim. (6), *15*, 5 (1902). Über Alkoholwirkung ferner: EDIE, Biochem. Journ., *13*, 219 (1919). — **10**) LAURÉN, Chem. Zentr. (1895), II, 1128. DUBS, Ebenda (1894), II, 59.; FERMI u. PERNOSSI, Bakter. Zentr., *15*, 229 (1894). DELEZENNE u. POZERSKI, Soc. Biol., *55*, 690 (1903). KAUFMANN, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 434 (1903). BARTELS, Virch. Arch., *130*, 497 (1893). GROBER, Pflüg. Arch., *104*, 109 (1904). Hefeenzym: R. O. HERZOG u. F. HÖRTH, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 432 (1907). — **11**) H. JASTROWITZ, Ztsch. Biochem., *2*, 157 (1906). — **12**) Thymol: KAUFMANN, l. c. Alkaloide: WROBLEWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *21* (1895). L. CAMUS, Soc. Biol., *60*, 264 (1906) für Hordeninsulfat. Formaldehyd: JOHANNESSOHN, Biochem. Ztsch., *83*, 28 (1917). SAWAMURA, Agric. Coll. Tokyo (1902), p. 265; T. M. PRICE, Biochem. Zentr., *3*, Ref. 1386. Äther. Öle: SIMONS, Chem. Zentr., 1897, II, 904; Anilinfarben: WINOGRADOW, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 471 u. 1997. HOUGHTON, Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 1351 (1907). Vgl. auch VINES, Ann. of Bot., *17*, 597 (1903). Sulfocyansäure: CAVAZZANI u. AVITE, Arch. ital. Biol., *60*, 35 (1914). — **13**) MENDEL u. BLOOD, Journ. Biol. Chem., *8*, 177 (1910).

Hervorzuheben ist, daß Pankreastrypsin durch Pepsin-HCl zerstört wird, aber nicht umgekehrt Pepsin durch Trypsin. Dies hängt wohl von der Reaktion des Mediums ab (1). Ähnlich verhält sich auch Papain zu Pepsin nach HARLAY (2). Papain und Pankreastrypsin zerstören einander jedoch nicht. Schutzwirkungen von Eiweißstoffen und Aminosäuren gegen die zerstörende Wirkung stärkerer Lösungen von Soda auf Pankreasferment hat VERNON (3) beobachtet; dieselben sind durch die erfolgende Alkalibindung wohl ohne weiteres verständlich. In der Autolyse ist Pepsin am wenigsten resistent: Erepsin behält seine Wirkung monatelang (4).

Über Profermente oder Zymogene liegen auf dem Gebiete pflanzlicher und tierischer Proteasen reichliche Angaben vor. LANGLEY und EDKINS (5) gaben vom Magensafte hungernder Tiere ein Pepsinogen an, welches im Gegensatze zum Pepsin gegen Alkalien widerstandsfähig ist. Das Pepsinogen ging schon beim Stehen an der Luft, durch Säureeinfluß, besonders bei höherer Temperatur, leicht in Pepsin über. VINES (6) nahm für Nepenthes das Vorkommen eines Zymogens an, weil Behandlung mit verdünnter Essigsäure die Wirkung des Glycerinextraktes aus den Kannen sehr steigerte. Über das Protrypsin der Pankreasdrüse existiert eine reiche Literatur (7). Noch mehr Interesse hat dieser Gegenstand erregt, seit PAWLOW nachgewiesen hat, daß die Verwandlung von Protrypsin in Trypsin durch ein Ferment, die Enterokinase, beeinflußt wird, welches gleichsam das „Ferment eines Fermentes" darstellt (8). Die Löslichkeit der Enterokinase in starkem Alkohol spricht nicht unbedingt, wie OPPENHEIMER (9) meint, gegen ihre Enzymnatur, da es andere Enzyme gibt, die gleichfalls in starkem Alkohol löslich sind, wie z. B. die Chlorophyllase. Nach VERNON geschieht die Aktivierung von Trypsinogen durch ein Ferment Deuterase. Über die Vorstufe des Labferments, das Prochymosin, hat PRIBRAM und STEIN berichtet (10).

Die verschiedenen früher aufgestellten Theorien über die Wirkungsweise der proteolytischen Enzyme haben kaum mehr ein aktuelles Interesse. Tatsächlich ist über die Natur des Vorganges nicht das mindeste bekannt. Wir haben aber Grund genug um an der Ansicht festzuhalten, daß es sich um hydrolytische Wirkungen auf die Gruppierung $-CH_2 \cdot CO \cdot NH \cdot CH_2-$

---

1) Vgl. J. H. LONG, Biochem. Bull., *3*, 80 (1913). Arch. int. Med., *13*, 314 (1914); ferner EDIE, Biochem. Journ., *8*, 193 (1914). LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 1620 (1916); *39*, 162 (1917). — 2) V. HARLAY, Journ. Pharm. et Chim. (6), *11*, 466 (1900). — 3) VERNON, Journ. of Physiol., *31*, 346 (1904). Trypsin wird durch Glykokoll, Alanin, Leucin deutlich aktiviert: J. WOHLGEMUTH, Biochem. Ztsch., *2*, 264 (1906). — 4) G. FALCO, Arch. di Farm., *22*, 245 (1916). — 5) LANGLEY u. EDKINS, Journ. of Physiol., *7*, 371 (1886). CHAPOTEAUT, Compt. rend., *94*, 1722 (1882); PODWYSSOTZKI, Pflüg. Arch., *39*, 62 (1886). EBSTEIN u. GRÜTZNER, Ebenda, *8*, 143 (1874). — 6) S. H. VINES, Journ. Linn. Soc., *15*, 427 (1877). Ann. of Bot., *11* (1897). HOPPE-SEYLER, Pflüg. Arch., *14*, 396 (1877) bemühte sich vergeblich, aus Drosera ein Zymogen darzustellen. — 7) HEIDENHAIN, zit. bei HOPPE-SEYLER, Lehrb. d. physiol. Chem., p. 261. PODOLINSKI, Pflüg. Arch., *10*, 557; *13*, 422. WEISS, Virch. Arch., *68*, 413. VERNON, Journ. of Physiol., *28*, 448 (1902). E. HEKMA, Journ. Physiol. et Pathol. Gén. (1904), Nr. 1. Arch. Anat. u. Physiol. (1904), p. 434. VERNON, Journ. of Physiol., *47*, 325 (1913); MELLANBY u. WOOLLEY, Ebenda, p. 339; Biochem. Journ., *8*, 494 (1914). — 8) Vgl. COHNHEIM, Biochem. Zentr. (1903), p. 170. POPIELSKI, Zentr. Physiol. (1903), Nr. 3. VERNON, Zentr. Physiol., *27*, 841 (1913). J. MELLANBY u. WOOLLEY, Journ. of Physiol., *45*, 370 (1912); *46*, 159 (1913). Das Sekretin wirkt auf die quantitative Fermentprodukte des Pankreas indirekt; vgl. L. POPIELSKI, Zentr. Physiol., *19*, 801 (1905); DIXON u. HAMILL, Journ. of Physiol., *38*, 314 (1909). — 9) OPPENHEIMER, Die Fermente, 3. Aufl., Bd. II, p. 211 (1910). — 10) E. PRIBRAM u. E. STEIN, Zentr. Bakt., II, *28*, 537 (1910). Früher HAMMARSTEN, Lehrbuch (1896), p. 154. GRÜTZNER, Pflüg. Arch., *16*, 118 (1878). G. LÖRCHER, Ebenda, *69*, 183 (1898).

unter Anlagerung von Wasser und Lösung der ·CO·NH· Verbindung handelt, und um katalytische Beschleunigungen solcher Wirkungen, wenn man auch zugeben muß, daß diese Anschauung in manchen Punkten noch einer näheren Begründung bedarf. Synthetische Effekte der Proteasen auf konzentrierte Lösungen der Eiweißspaltungsprodukte sind zwar angegeben, so von TAYLOR (1) bezüglich der Wirkung von Trypsin auf die Hydrolysenprodukte von Protamin, wobei das Ausgangsmaterial wieder entstanden sein soll; ferner von ROBERTSON (2) über Eiweißsynthese durch Pepsin, doch sind eingehende Studien darüber seither nicht angestellt worden. ABDERHALDEN (3) untersuchte die Synthesenfrage in Aminosäurengemischen aus autolysierten Organen mit dem Ergebnis, daß nur das aus dem eigenen Organ stammende Aminosäurengemisch von Organ-Macerationssäften vermindert wurde; es würde sich um spezifische Wirkungen handeln. Die zu erwartende Hemmung der Reaktion durch die Endprodukte fand WALTERS (4) bei der tryptischen Caseinverdauung nur sehr wenig ausgesprochen. Daß sich die Wirkungen zweier gleichzeitig anwesender Enzyme nicht einfach summieren müssen, zeigt die Beobachtung von FISCHER und ABDERHALDEN (5), wonach bei kombinierter Wirkung von Pepsin-HCl und Pankreasenzym eine stärkere Hydrolyse eintritt, als mit Trypsin allein. Auch nach LEVENE und STOOKEY (6) können zwei proteolytische Enzyme in Mischung eine stärkere Wirkung entfalten, als der Summe der Einzeleffekte entspricht.

Schließlich wäre noch der Antiproteasen zu gedenken, an deren Tätigkeit man manchmal, wie es scheint, nicht mit der gehörigen Begründung die Widerstandsfähigkeit lebender Gewebe gegen anwesende proteolytische Enzyme geknüpft hat (7). Eine erschöpfende Kritik der einschlägigen Fragen, die auch für die Wirkung pilzlicher Parasiten auf Pflanzengewebe Interesse hat, findet sich von FERMI (8) gegeben. Es scheint nicht, als ob man die Nichtangreifbarkeit lebender Zellen, welche oft hervorgehoben wird, durch die Gegenwart von Antiproteasen erklären könne, welche die Fermente der Parasiten paralysieren. Ebensogut ist es aber möglich, daß im lebenden Plasma komplexe Proteide, die von den Proteasen nicht angreifbar sind, jenen Schutz gewähren, der erst nach deren Spaltung aufhört. Besonders wäre an die Beobachtung BIEDERMANNS zu erinnern, daß Trypsin das Plasma der Blattzellen von Elodea direkt nicht angreift, wohl aber nach vorhergehender Entfernung der Zell-Lipoide. Übrigens sind nicht immer lebende Gewebe gegen Trypsin refraktär (9), was man auf dem angegebenen Wege gleichfalls verständlich finden könnte. Mikroben greifen nach FERMI (10) Trypsin nicht an.

Die Frage nach der Spezifität der Proteasen ist noch nicht in allen Teilen entschieden. Während manche Forscher (11) der Ansicht sind, daß eine

1) A. E. TAYLOR, Journ. Biol. Chem., *3*, 87 (1907). — 2) T. BR. ROBERTSON, Ebenda, p. 95. — 3) ABDERHALDEN, Fermentforschung, *1*, 47 (1914). — 4) E. H. WALTERS, Journ. biol. Chem., *12*, 43 (1912). — Zum Mechanismus der Hydrolyse: P. HÁRI, Pflüg. Arch., *115*, 82 (1906). — 5) E. FISCHER u. E. ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *40*, 215 (1903). — 6) P. A. LEVENE u. L. B. STOOCKEY, Amer. Journ. of Physiol., *12*, 1 (1905). — 7) Antitrypsin: K. MEYER, Biochem. Ztsch., *23*, 68 (1909), R. CHIAROLANZA, Med.nat. Arch., *2*, 43 (1909). E. ZUNZ, Bull. Soc. Roy. Brux. *64*, 28 (1906). Antipepsin: L. BLUM u. E. FULD, Ztsch. klin. Med., *58*, 505 (1906). — 8) CL. FERMI, Zentr. Bakt., I, *56*, 55 (1910). Arch. Farm. Sper., *10*, 1 (1911), LANGENSKIÖLD, Naturwiss., *2*, 883 (1914); KIRCHHEIM u. BÖTTNER, Arch. exp. Path. *78*, 99 (1914); BEST, Zieglers Beitr. path. An., *60*, 170 (1914); E. HAASE, Fermentforsch., *1*, 437 (1916). — 9) Vgl. L. KIRCHHEIM, Arch. exp. Pathol., *56*, 352 (1912). — 10) CL. FERMI, Zentr. Bakt., I, *52*, 252 (1909). — 11) K. KIESEL, Pflüg. Arch., *108*, 343 (1905).

weitgehende Spezifität der proteolytischen Zellfermente anzunehmen sei, kam FERMI (1) in seinen eingehenden Studien zum Resultat, daß kein Grund für eine solche Annahme vorliegt. Doch hat bezüglich der Peptasen ABDERHALDEN (2) Anhaltspunkte gewonnen, daß die Spaltung bestimmter Dipeptide nicht durch alle Pilzenzyme möglich ist. So spalteten der Preßsaft von Allescheria Gayoni, Rhizopus tonkinensis und Aspergillus Wentii l-Leucyl-d-Leucin, während der Preßsaft aus Mucor Mucedo dieses Dipeptid nicht angriff.

§ 7.

Hinweis auf qualitative und quantitative Methoden.

Die wichtigsten qualitativen Erkennungsreaktionen für Eiweißstoffe (3), wie die Xanthoproteinreaktion, die wie die MILLONsche Probe auf die aromatischen Gruppen im Eiweißmolekel zu beziehen ist (4), die Biuretprobe, die Alkaloidreaktionen usw. sind bereits im voranstehenden mehrfach erwähnt und auf ihre Ursachen zurückgeführt worden. Hinsichtlich der Biuretprobe sei noch hinzugefügt, daß sie nach HOFMEISTER eine der empfindlichsten Eiweißproben ist (5). Als gutes Reagens wird eine Mischung empfohlen, die man aus 1000 ccm 10%NaOH und 25 ccm 3% $CuSO_4$ herstellt (6). Auch die Tanninfällung gehört zu den empfindlichsten Eiweißreaktionen. Äußerst empfindliche Proben (7) sind sodann eine Reihe von Modifikationen der Sublimat-Eiweißfällung (8). Mit einer Lösung von 10 g Sublimat, 20 g Citronensäure und 20 $NaClO_3$ auf 500 Wasser weist man nach JOLLES Eiweiß noch bis zu einer Verdünnung auf 120,000 nach. Verwendet werden ferner 2—5% Trichloressigsäure (9), Asaprol oder α-monosulfosaures β-Naphtholcalcium (RIEGLER) (10), Sulfosalicylsäure nach R. STEIN und G. KOCH (11), Pikraminsäure (12), Uranacetat nach KOWALEWSKI (13), Chromatlösungen (14), Fällung mit xanthogensauren Salzen nach ZÖLLER (15), die Purpurfärbung mit Goldchlorid und Ameisensäure

1) CL. FERMI, Zentr. Bakt., *68*, 433; *69*, 465 (1913). Arch. Farm. Sper., *15*, 36 (1913). — 2) E. ABDERHALDEN u. H. PRINGSHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 249 (1909). Ferner: ABDERHALDEN, Ebenda, *87*, 220 u. 231 (1913). ABDERHALDEN u. RILLIET, Ebenda, *55*, 395 (1908) für Psalliota. Für die tierische Darmverdauung: E. FISCHER u. ABDERHALDEN, Ebenda, *51*, 264 (1907); ABDERHALDEN, Ebenda, *47*, 159, 346, 391, 466; *48*, 537, 557 (1906); *49*, 1, 31 (1906); *51*, 294; *53*, 251, 280, 294 (1907); *55*, 371 u. 390 (1908); *78*, 344 (1912). LONDON, Ebenda, *47*, 368 (1906). O. WARBURG, Ebenda, *48*, 205 (1906). — 3) Zusammenstellung der Farbenreaktionen aus trockenem Ovalbumin bei C. REICHARD, Pharm.-Ztg., *55*, 158 (1910). Zusammenfassung der Eiweißreaktionen bei FR. SAMUELY, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.-meth., *2*, 347 (1909). — 4) K. INOUYE, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 80 (1912) isolierte Mononitrotyrosin aus den Produkten der Xanthoproteinprobe. — 5) F. HOFMEISTER, Ztsch. physiol. Chem., *4*, 257 (1880). SCHMIDT-MÜHLHEIM, Dubois Arch. (1879), p. 42. E. SCHAER, Ztsch. analyt. Chem., *42*, 51 (1903). L. TSCHUGAEFF, Ber. chem. Ges., *40*, 1973 (1907). P. A. KOBER u. SUGIURA, Amer. Chem. Journ., *48*, 383 (1912). A. W. THOMAS, Biochem. Bull. *2*, 556 (1913). V. HONS, Biochem. Zentr., *18*, 41 (1914); RIEGLER, Ztsch. analyt. Chem., *53*, 242 (1914). — 6) J. L. KANTOR u. W. GIES, Biochem. Bull., *1*, 264 (1912). — 7) S. die Angaben über Empfindlichkeitsgrenzen der Eiweißreagentien bei RAKUSIN, Chem. Zentr., 1916, II, p. 428. — 8) SPIEGLER, Ber. chem. Ges., *25*, 375 (1892). JOLLES, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 306 (1895); *81*, 205 (1912). — 9) OBERMAYER, Wien. mediz. Jahrbücher (1888), p. 375. M. CLAUDIUS, Münch. med. Woch.schr., *38*, 1964 (1914). — 10) RIEGLER, Chem. Zentr. (1895), I, 362 u. 1083; (1896), I, 332. — 11) G. KOCH, Ebenda (1889), II, 703; Jahresber. Agrik. Chem. (1889), p. 490. Chem. Zentr. (1901), II, 45; R. STEIN, Chem. Zentr. (1898), I, 225; PRAUM, Ebenda (1901), II, 322. BOURCEAU, Soc. Biol. (1897), p. 317. — 12) OSTROMYSSLENSKI, Journ. russ. phys.-chem. Ges., *47*, 317 (1916). — 13) KOWALEWSKI, Ztsch. analyt. Chem., *24*, 551 (1886). — 14) R. S. FINCH, Biochem. Bull., *4*, 203; LEONE, Boll. chim. farm., *57*, 303 (1918). — 15) PH. ZÖLLER, Ber. chem. Ges., *13*, 1062 (1880).

nach Axenfeld (1), die violette Farbenreaktion mit aromatischen Aldehyden bei Gegenwart von Eisensulfat und verdünnter Schwefelsäure nach Reichel (2), die Fällung mit Alkalipersulfat (3). Dazu kommen verschiedene Farbenreaktionen, die mit der Tryptophangruppe zusammenhängen, welche teilweise schon angeführt worden sind. Hinzugefügt seien die von Voisenet (4) gefundene Probe: Violettfärbung mit sehr schwach nitrithaltiger Schwefelsäure und einer Spur Formaldehyd, ferner alle Proben mit Formol und Schwefelsäure bei Gegenwart etwas oxydierender Stoffe, wie $Fe_2(SO_4)_3$, die sich an die Glyoxylsäure-Probe anreihen (5). Zu den Tryptophanreaktionen gehört auch die Reaktion nach Edlbacher (6): blaurote Färbung nach Schütteln mit Dimethylsulfat und NaOH und Unterschichten mit konzentrierter H_2SO_4. Die Blaufärbung beim Kochen von entfettetem Eiweiß mit Äther mittels Salzsäure (Liebermanns Probe) hängt nach van Ekenstein und Blanksma (7) einerseits von den Tryptophankernen, andererseits von abgespaltenem Furfurol ab. Rosenthaler (8) betrachtet auch die Probe mit Vanillin-HCl als Tryptophanprobe. Die Pettenkofersche Reaktion wieder weist, wie wir wissen, auf die Abspaltung von ω-Oxymethylfurfurol aus den Kohlenhydratgruppen des Eiweiß hin (9). Chinon gibt mit Eiweiß und Aminosäuren Rotfärbung (10). Die von Harden und Norris (11) angegebene Diacetylreaktion von Eiweiß: Bildung eines violetten, rot fluorescierenden Farbstoffes durch Eiweiß mit Diacetyl in alkalischer Lösung wird von verschiedenen Guanidinderivaten ebenso gegeben. Die von Arnold (12) verfolgte Reaktion mit Nitroprussidnatrium und Ammoniak, welche mit den Schwefelgruppen des Eiweiß zusammenhängt, tritt in Gewebsschnitten gleichfalls ein, und wird auch von Polypeptiden erzeugt. Von den Aminosäuren gibt nur das Cystein diese rote Farbenreaktion. Eine allgemeine Eiweißprobe ist sie nicht. Die Blaufärbung mit Triketohydrinden nach Ruhemann ist nach Abderhalden (13) Eiweiß sowohl als Proteosen und Aminosäuren eigen, allen Stoffen die gleichzeitig freie NH_2-Gruppen und COOH-Gruppen enthalten. Oguro (14)

1) Axenfeld, Ber. chem. Ges., *19*, Ref. 186 (1886). — 2) C. Reichl, Monatsh. Chem., *11*, 155 (1890). — 3) C. Strzyzowski, Chem. Zentr. (1899), I, 151. — 4) E. Voisenet, Bull. Soc. Chim. (3), *33*, 1198 (1905). Breidahl, Biochem. Journ., *9*, 36 (1915). Voisenet, Compt. rend., *166*, 789 (1918); Bull. Soc. Chim. (4), *23*, 361 (1918). — 5) S. F. Acree, Amer. Chem. Journ., *37*, 604 (1907); O. Rosenheim, Biochem. Journ., *1*, 233 (1906). H. D. Dakin, Journ. Biol. Chem., *2*, 289 (1907). Triformoxim wendet statt Formol L. Lewin, Ber. chem. Ges., *46*, 1796 (1913) an. Zur Hinderung der Probe von Adamkiewicz durch Anwesenheit von HNO_3—Spuren: Mottram, Biochem. Journ., *7*, 249 (1913). Tryptophanprobe bei verschiedenen Eiweißkörpern: Th. B. Osborne u. J. F. Harris, *25*, 853 (1903). — 6) S. Edlbacher, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 240 (1919). — 7) W. A. van Ekenstein u. J. Blanksma, Chem. Weekbl., *8*, 313 (1911). Über Indolproben der Proteine ferner: C. Fleig, Ann. Chim. appl. anal., *13*, 427 (1908); F. A. Steensma, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 25 (1906); Grimmer, Milchwirtsch. Zentr., *3*, 296 (1907). — 8) L. Rosenthaler, Apothek.-Ztg., *22*, 678 (1907). — 9) Vgl. J. Ville u. E. Derrien, Bull. Soc. Chim. (4), *5*, 895 (1909); Guérin, Journ. Pharm. et Chim. (6), *28*, 54 (1908). Fleig, l. c. (1908). — 10) M. Raciborski, Bull. Acad. Cracovie, Juli 1906. — 11) A. Harden u. D. Norris, Journ. of Physiol., *42*, 332 (1911). — 12) W. Arnold, Anzeig. Akad. Krakau A (1910), 56, 61. Ztsch. physiol. Chem., *70*, 300 (1911). — 13) E. Abderhalden u. H. Schmidt, Ebenda, *72*, 37 (1911); *81*, 493 (1912). Hierzu: Herzfeld, Biochem. Ztsch., *59*, 249 (1914); Howe, Biochem. Bull., *3*, 269 (1914); Deetjen u Fränkel, Münch. med. Woch.schr. 1914, p. 466; Denigès, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, *54*, 49 (1914), Neuberg, Biochem. Ztsch., *67*, 56 (1914); Fränkel, Ebenda, p. 298; Harding u. Warneford, Journ. Biol. Chem., *25*, 319 (1916); ebenda, p. 337; *30*, 205 (1917). Retinger, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1059 (1917). Koritschoner, Biochem. Ztsch., *93*, 172 (1919); O. Loew, Flora, *110*, 262 (1918). — 14) Y. Oguro, Ztsch. exper. Pathol. u. Ther., *7*, 349 (1910).

empfahl als Eiweißprobe die Fällung mit Jodtinktur und Natriumbisulfat. Aceton fällt nach WEYL (1) Eiweiß quantitativ, ebenso werden Aminosäuren gefällt. Die von BARDACH gefundene Eiweißprobe: Bildung eines Niederschlages aus gelben Krystallnadeln beim Hinzufügen von Jodjodkalium, Aceton und Alkali, wird gleichfalls von Aminosäuren gegeben (2). Die medizinisch wichtige Diazoreaktion auf Oxyproteinsäuren (3) hat für uns noch keine Bedeutung gewonnen. Histidin gibt sie gleichfalls.

Zum mikroskopischen Nachweis von Eiweiß kann man sich, wie es bereits J. SACHS tat, und wie ich selbst es vorteilhaft fand, der Biuretprobe bedienen (4). Die MILLONsche Probe (5) sowie die RASPAILsche Probe sind gleichfalls häufig verwendete mikrochemische Eiweißproben. Sehr gut eignet sich, wie ABDERHALDEN und O. LOEW fanden, die Triketohydrindenreaktion zur mikrochemischen Anwendung. Die vielen Anilinfarbentinktionen der Histologie sind zum größten Teile gleichfalls Eiweißreaktionen, und über ihre chemische Bedeutung ist seit HEIDENHAIN (6) viel geschrieben worden, ohne daß die Sachlage definitiv geklärt worden wäre. Die Ferrocyankalium-Essigsäureprobe mit nachfolgender Eisenbehandlung wurde durch ZACHARIAS und O. LOEW (7) zum mikroskopischen Eiweißnachweis herangezogen. Die einst von KRASSER angegebene Rotfärbung mit Alloxan ist für die Gegenwart von Eiweiß nicht beweisend (8). Die Chloraminreaktion der Eiweißstoffe bei Hypochloriteinwirkung eignet sich sehr gut zur Feststellung bestimmter Lokalisationen (9). Eine eingehende kritische Behandlung der mikroskopischen Methoden zum Proteinnachweise hat DE WÈVRE und zuletzt TUNMANN geliefert (10). Xanthoproteinprobe oder Millon lassen sich auf makroskopische Objekte, wie Blätter, ebenso schön zum Eiweißnachweise gebrauchen wie die Jodstärkereaktion (11).

Die quantitativen Methoden der Eiweißchemie sind, so viele und schätzenswerte Hilfsmittel wir darin auch besitzen, im ganzen noch wenig ausgebildet. Die näheren Details findet man in allen Handbüchern der physiologischen Chemie, besonders in den Kompendien von ABDERHALDEN erschöpfend wiedergegeben, so daß ich mich hier nur auf einige Andeutungen beschränken kann. Die Gesamteiweißbestimmung wird in der Praxis sehr häufig durch die Bestimmung des Gesamtstickstoffes im Material nach KJELDAHL ersetzt, und man berechnet aus der ermittelten Zahl das „Rohprotein" durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25. Dieser Faktor bezieht sich auf einen N-Gehalt des Eiweiß von 16%. Da dies vielfach nicht nur ungenau, sondern mit einem erheblichen Fehler verbunden ist, und zudem

---

1) TH. WEYL, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 246 (1910); GOTTLIEB, Biochem. Bull., *1*, 458 (1914). — 2) BR. BARDACH, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 355 (1908). CHS. WEISMAN, Biochem. Bull., *1*, 538 (1912). — 3) H. PAULY, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 284 (1915); ebenda 426; G. TOTANI, Biochem. Journ., *9*, 385 (1916); MASSLOW, Biochem. Ztsch., *70*, 306 (1915); O. FÜRTH, Ebenda, *69*, 448 (1915); *96*, 269 (1919); ZUCKER u. RUGE, Münch. med. Woch.schr., *63*, 918 (1916). — 4) Vgl. auch SZYMANSKI, Landw. Vers.-Stat., *33*, 229 (1886). — 5) Vgl. L. GOLODETZ u. P. G. UNNA, Monatsh. Dermatol., *47*, 595 (1908). — 6) M. HEIDENHAIN, Pflüg. Arch., *90*, 115 (1902). Münch. med. Woch.schr., *49*, 437 (1902). A. FISCHER, Fixierung und Färbung des Protoplasmas (1900), hat zuerst die Bedeutung der Adsorption für die histologischen Färbungen betont. Methylenblau: GENEAU DE LAMARLIÈRE, Bot. Zentr., *93*, 401 (1903). Färbung für basisches Eiweiß mit Wasserblau + Eosin + Phloxin: KRUGENBERG u. THIELEMANN, Ztsch. wiss. Mikr., *34*, 234 (1918). — 7) E. ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1883), p. 209. O. LOEW, Ebenda (1884), p. 273. (Vorheriges Quellenlassen in KOH.) — 8) F. KRASSER, Sitz.ber. Wien. Ak., *94*, I, 118 (1886). — 9) J. F. BRIGGS, Journ. Soc. Chem. Ind., *37*, 447 (1918). — 10) A. DE WÈVRE, Bull. Soc. Belg. Mikr., *20*, 91 (1893); Rec. Inst. Botan. Bruxelles, *2*, 123 (1906). O. TUNMANN, Pflanzenmikrochemie, Berlin 1913, p. 409. — 11) Vgl. H. MOLISCH, Ztsch. f. Botan., *8*, 124.

große Mengen von Nichteiweißstoffen als Protein mitbestimmt werden, so sinkt der wissenschaftliche Wert dieser Methode häufig auf Null herab. Der in Wasser oder Salzlösungen lösliche Teil der Proteine läßt sich nach F. HOFMEISTER (1) quantitativ durch Kochen mit Bleihydroxyd oder noch besser mit Natriumacetat und Eisenchlorid ausfällen. Man kann ferner die Koagulation in äußerst schwach essigsaurer Lösung verwenden, oder, wie es das für Pflanzenuntersuchungen häufig angewendete Verfahren nach STUTZER (2) tut, mit Kupferhydroxyd fällen. Bei Gegenwart von viel Alkaliphosphaten ist Zusatz von Alaun zu verwenden. Albumosen und Peptone fallen dabei nur teilweise aus. Uranacetat fällt nach SCHJERNING (3) auch die Proteosen mit. Ist man gezwungen, zur Lösung der in Wasser und Salzlösungen unlöslichen Proteine stärkere Laugen oder Säuren zu verwenden, so besteht bereits die Gefahr eines Fehlers einer hydrolytischen Aufspaltung. Phosphorwolframsäure fällt zwar in saurer Lösung die Proteosen und Peptone mit, aber nebst diesen auch die Diaminosäuren und Histidin. Tannin fällt Proteine und Proteosen. Die Eiweißbestimmung durch Pepsinverdauung soll nach WESTHAUSSER (4) Werte liefern, die mit der Methode von STUTZER und der Tanninmethode gut stimmen. Inwieweit die Bestimmung des verdaulichen und unverdaulichen Eiweiß mittels Pepsin dem heutigen Stande der Eiweißchemie entspricht, muß noch näher geprüft werden.

In neuerer Zeit wurden noch andere Methoden zur quantitativen Eiweißbestimmung angegeben, worunter die colorimetrische Methode von CLAUDIUS (5) erwähnt sei, die in einer Fällung mit Trichloressigsäure und Tannin unter Zusatz von Fuchsin besteht, wobei man die Entfärbung des Filtrates mit der ursprünglichen Farbe vergleichend feststellt. VALLERY (6) fällt das Eiweiß unter Anwendung von Capronsäure in der Wärme. Die nephelometrische Bestimmung von Eiweiß hat KOBER (7) zu einer genauen Methode ausgearbeitet. STRZYZOWSKI (8) endlich bestimmte die Menge des Eiweißniederschlages durch das Volumen nach Zentrifugieren bei einer bestimmten Tourenzahl und Temperatur.

§ 8.

Einteilung der Eiweißkörper und spezielle Betrachtung der einzelnen Gruppen.

Bei dem raschen Fortschreiten der Eiweißchemie läßt sich eine Übersicht (9) über die bisher bekannten Eiweißsubstanzen nur an der

1) F. HOFMEISTER, Ztsch. physiol. Chem., *2*, 288 (1878); *4*, 263. SESTINI, Landw. Vers.-Stat., *23*, 305 (1879) (Bleizucker). Quantitative Bestimmung des salzlöslichen Eiweiß: OLSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 211 (1914). — 2) A. STUTZER, Journ. f. Landwirtsch., *28*, 103; *29*, 473 (1881). Ber. chem. Ges., 19, Ref. 185 (1886). FASSBENDER, Ebenda (1880), p. 1821. J. KÖNIG, Untersuch. landwirtsch. wicht. Stoffe, Berlin. L. BEULAYGUE, Compt. rend., *138*, 701 (1904). — 3) H. SCHJERNING, Ztsch. analyt. Chem., *39*, 633 (1900). — 4) F. WESTHAUSSER, Ztsch. physiol. Chem., *72*, 363 (1911). — 5) M. CLAUDIUS, Münch. med. Woch.schr. (1912), p. 2218; *38*, 1964 (1914). — 6) L. VALLERY, Journ. de Physiol., *14*, 947 (1912). — 7) PH. A. KOBER, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1585 (1913). MARSHALL, BANKS u. GRAVES, Arch. of Intern. Med., *18*, 250 (1916). — 8) C. STRZYZOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 25 (1913). JUSTIN-MUELLER, Bull. Sci. Pharm., *24*, 221 (1917). Quantitative Eiweißbestimmung durch Jodierung mittels der Jodstärke-Reaktion: C. LANGE, Biochem. Ztsch., *95*, 46 (1919). — 9) Vgl. besonders die Übersicht von F. SAMUELY in Abderhaldens biochem. Handlexikon, Bd. IV (1911). THO. B. OSBORNE, Ergebn. d. Physiologie, *10*, 47 (1910). Eine Klassifikation auch bei J. R. CARRACIDO, Biochem. Zentr., *10*, 688 (1910); *3*, Ref. 1193 (1905). OSBORNE, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *9*, 1 (1915); WEIL, Ebenda, p. 12.

Hand einer provisorischen Gruppierung geben, welche erst hier und da den Eindruck einer wissenschaftlich tiefer begründeten Einteilung macht.

HALLIBURTON und HOPKINS (1) schlagen vor, für alle Eiweißkörper die generelle Bezeichnung „Proteine“ oder „Albuminoide“ zu gebrauchen. Hingegen sei der Ausdruck „Proteide“ aufzugeben. Von den Proteinen seien deren hydrolytische Derivate als „Metaproteine“ zu sondern. Sie zerfallen in die uns bereits bekannten Gruppen der Proteosen, Peptone und Polypeptide.

Die Proteine werden eingeteilt in einfache Proteine und konjugierte Eiweißkörper. Die einfachen Proteine zerfallen in folgende Unterklassen: Protamine, Histone, Albumine, Globuline, Skleroproteine und Phosphoproteine. Von konjugierten Proteinen kann man die Nucleoproteine, Glucoproteine und Chromoproteine unterscheiden. Mit einigen Ergänzungen und Änderungen soll dieses System hier eingehalten werden.

A. Einfache Proteine.

Da die von KOSSEL vertretene Ansicht, wonach die Histone und Protamine als einfachste Eiweißkörper und als Ausgangspunkt der Eiweißchemie aufzufassen seien, manche Bedenken gegen sich hat, wollen wir die am längsten bekannten und am weitesten verbreiteten Gruppen der Albumine und Globuline voranstellen, welche uns zugleich das chemische Verhalten der Proteine typisch wiedergeben. Das Verhältnis beider Gruppen bedarf noch der Klärung. Jedenfalls sind es einander sehr nahestehende Stoffe, so daß es gerechtfertigt wäre, beide in eine Gruppe der Euproteine zusammenzufassen. Sie fehlen vielleicht keiner Tier- und Pflanzenzelle, sind jedoch auf zoologischem Gebiete weit besser gekannt als auf botanischem. Eine zweite, dem Pflanzenreiche anscheinend eigentümliche Gruppe stellen die durch RITTHAUSENS Arbeiten zuerst näher bekannt gewordenen alkohollöslichen Samenproteine des Klebers dar, deren Typus RITTHAUSENS Gliadin ist. Da sie bei der Hydrolyse viel Prolin geben, so hat OSBORNE vorgeschlagen, sie als Prolamine zusammenzufassen. Eine dritte Gruppe wird von den typischen Reserveproteinen der Pflanzensamen und Knollen formiert, die OSBORNE vorläufig unter der Benennung Phytoglobuline vereinigt. Weiter folgt jene Gruppe tierischer Reserveproteine, welche durch das Milchcasein einerseits und durch die im Dotter vorkommenden Vitelline andererseits vertreten werden, und die sich durch Phosphorgehalt und schwach sauren Charakter kennzeichnen. Man kann sie als Phosphoproteine zusammenstellen. Hierauf würden die bislang allerdings nur aus dem Tierreiche bekannten Gruppen folgen, die sich durch ihren hohen Gehalt an Diaminosäuren und Histidin sowie durch ausgesprochen basischen Charakter auszeichnen: die Protamine und Histone, welche auch im Pflanzenreiche in den Spermatozoiden wohl noch zu erwarten sind.

I. Die Euproteine.

Die Albumine und Globuline welche so viele Eigenschaften miteinander teilen, daß sie eine gemeinsame Behandlung finden können,

---

1) HALLIBURTON u. HOPKINS, Proc. Chem. Soc., *23*, 55 (1907). — Frühere Literatur: NEUMEISTER, Lehrb., l. c. A. WROBLEWSKI, Zentr. Physiol., *11*, 306 (1897). Ber. chem. Ges., *30*, 3045 (1897). CHITTENDEN, Zentr. Physiol., *11*, 497 (1897). FR. HOFMEISTER, Ergebn. d. Physiologie (1902), p. 794. D. PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.-stat., *60*, 15 (1904). E. STRAUSS, Stud. üb. d. Albuminoide, Heidelberg 1904

pflegen auch im lebenden Organismus meist vergesellschaftet vorzukommen, da beide in den verdünnten Salzlösungen der Zellflüssigkeiten gut löslich sind. In Alkohol sind sie unlöslich (1); sie geben alle typischen Fällungs- und Farbenreaktionen der Eiweißkörper, liefern bei der Hydrolyse stets viel mehr Monamino- als Diaminostickstoff und enthalten relativ viel Schwefel. Man nimmt meist an, daß sie phosphorfrei sind.

Doch haben KAAS (2) sowohl als WILLCOCK und HARDY, wie OSBORNE (3) darauf aufmerksam gemacht, daß Ovalbumin aus Hühnerei stets Phosphor enthält, im Mittel 0,13%. Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, daß diesem Befunde ein besonderer beigemengter Proteinstoff zugrunde liegt. Auch von Globulinen aus Ochsenblutserum ist Phosphorgehalt angegeben worden (4). Durch Dialyse lassen sich die Albumine und Globuline aus ihrer gemeinsamen Lösung in verdünntem Mineralsalz leicht abtrennen; Globulin fällt als dichter Niederschlag aus, während Albumine in Lösung bleiben.

Pflanzliche Albumine sind wenig studiert; am besten das Leucosin der Getreidesamen, welches CHITTENDEN und OSBORNE beschrieben haben. Neben Globulin ist im Frühjahrssafte des Phloems der Bäume nach eigenen Erfahrungen auch reichlich Albumin vorhanden, über welches Untersuchungen noch anzustellen sind. Die tierischen Albumine sind anscheinend alle krystallisierbar, wenn man sie bei schwach saurer Reaktion durch Ammoniumsulfat langsam aus ihrer wässerigen Lösung ausscheidet (5). Nach OSBORNE und VORHEES ist das Weizenleucosin durch Sättigung der Lösung mit Natriumchlorid oder Magnesiumsulfat leichter fällbar als tierisches Albumin (6). Alle Albumine werden aber durch Ammoniumsulfat in $^2/_3$ bis Ganzsättigung gefällt. Hingegen fallen die Globuline schon bei Halbsättigung aus, worauf POHL (7) sein Trennungsverfahren gegründet hat. Weizenleucosin koaguliert bei 52°, Ovalbumin etwas höher.

Die scharfe Scheidung der Globuline von den Albuminen durch ihre Unlöslichkeit in salzfreiem Wasser hat zuerst HOPPE-SEYLER durchgeführt. Für Pflanzen bemühte sich hierauf dessen Schüler WEYL (8) die Existenz von Globulinen darzutun, doch gehört der größte Teil der von WEYL sowie der von CHITTENDEN und OSBORNE in der Folge als Globuline angesprochenen pflanzlichen Eiweißstoffe chemisch und biologisch in eine andere Gruppe. Da sich die Globuline bereits durch sehr geringe Salzmengen in Lösung bringen lassen und Nichtelektrolyte diese lösende Wirkung nicht ausüben, so besteht kein Zweifel, daß es sich um

---

1) Über Differenzen zwischen Globulinen und Albuminen bezüglich der Ausfällung mit Alkohol: M. CHR. TEBB, Journ. of Physiol., *30*, 25 (1904). — 2) K. KAAS, Monatsh. Chem., *27*, 43 (1906). — 3) E. G. WILLCOCK u. W. B. HARDY, Proceed. Cambridge Phil. Soc., *14*, 119 (1907). OSBORNE u. CAMPBELL, Journ. Amer. Chem. Soc., *21*, 477 (1899); *22*, 422 (1900). — 4) HASLAM, Biochem. Journ., *7*, 492 (1913) unterschied hier ein wasserunlösliches P-hältiges Globulin und ein wasserlösliches P-freies „Pseudoglobulin". H. CHICK, Ebenda, *8*, 404 (1914). Über Serumalbumin: HARTLEY, Ebenda, p. 451 (1914). — 5) Über krystallisierbare Ovalbumine vgl. A. PANORMOW, Chem. Zentr. (1906), I, 372. Biochem. Zentr., *5*, 171 (1906). W. WORMS, Ebenda (1906), II, 1508). — Resultate der quantitativen Hydrolyse: THO. B. OSBORNE, JONES u. LEAVENWORTH, Amer. Journ. Physiol., *24*, 252 (1909). HUGOUNENQ, Compt. rend., *143*, 693 (1906). — 6) BAILEY u. BLISH, Journ. Biol. Chem., *23*, 345 (1915) verwenden 5%iges Kaliumsulfat. — 7) J. POHL, Arch. exper. Pathol., *20*, 426 (1886). Kritische neuere Untersuchungen hierüber besonders bei H. WIENER, Ztsch. physiol. Chem., *74*, 29 (1911). — 8) TH. WEYL, Pflüg. Arch., *12* (1875); Ztsch. physiol. Chem., *1*, 72 (1877). HOPPE-SEYLER, mediz.chem. Unters. (1867), p. 219.

Bildung von Salzionen-Globulin handelt, das im Gegensatze zum nicht ionisierten Globulin löslich ist (1). Hingegen ist es abzulehnen, wenn MOROCHOWETZ (2) die Albumine als Mineralsalzverbindungen von Globulinen ansicht. Ebenso teile ich nicht die Ansicht von STARKE (3), daß die Globuline Alkali-Albuminverbindungen seien (4). Die von MOLL (5) behauptete Überführung von Serumalbumin in Globulin durch die Einwirkung sehr verdünnter Alkalien hat sich als Bildung von salzlöslichen hydrolytischen Produkten des Albumins herausgestellt (6).

Die Globuline kann man ebensogut wie durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat nach POHL auch durch Sättigung mit Magnesiumsulfat nach HAMMARSTEN (7) zur Abscheidung bringen.

II. Die Prolamine.

In den Samen der Gramineen kommen eigentümliche Eiweißstoffe vor, welche in 50—80% Alkohol auffallend leicht löslich sind. Sie sind ein Hauptbestandteil des Getreideklebers, in dem bereits 1820 TADDEI (8) einen alkohollöslichen Teil als „Gliadin" von dem alkoholunlöslichen „Zymom" unterschied. LINK (9) hob die Ähnlichkeit des Klebers mit Eiweiß hervor. In der Folge wurde der Kleber häufig mit dem tierischen Leim verglichen; BERZELIUS (10) wie andere Chemiker sprachen von Pflanzenleim. Wir wissen heute, daß zwischen dem tierischen Glutin und dem Gliadin nicht die mindeste chemische oder biologische Analogie besteht. Das im Weizen vorkommende Gliadin von TADDEI dürfte nach OSBORNE tatsächlich einheitlicher Natur sein. Es bildet etwa die Hälfte des Gesamteiweiß im Weizen (11), ebenso im Roggen, während es bei Hordeum und Zea durch die verwandten Stoffe Hordein und Zein vertreten wird. Nur der Reis enthält nicht viel von solchen Proteinen. Gliadin ist in 70—80%igem Alkohol leichter löslich als in Wasser, in absolutem Alkohol jedoch unlöslich. Die opalescente wässerige Lösung ist durch Natriumchlorid fällbar. Das Zein ist nach OSBORNE gegen die Einwirkung verdünnter Alkalien resistent. Es geht beim Erwärmen mit Wasser oder sehr schwachem Alkohol in eine unlösliche Modifikation über. Die Eiweißreaktionen sind die gewöhnlichen. Wie HENDERSON (12) fand, liefern die in Rede stehenden Proteine sehr viel Amidstickstoff bei der Hydrolyse; OSBORNE (13) erfuhr, daß sie alle sehr wenig Arginin und Histidin, kein Lysin, aber viel Prolin, Glutaminsäure und Ammoniak liefern. Nach diesem charakteristischen Verhalten wurde der Name Prolamine für die Gruppe gewählt (14).

---

1) WO. PAULI, Pflüg. Arch., *78*, 315 (1899). J. MELLANBY, Journ. of Physiol., *33*, 338 (1905); vgl. auch A. E. TAYLOR, Journ. Biol. Chem., *1*, 345 (1906). W. B. HARDY, Journ. of Physiol., *33*, 251 (1905). — 2) L. MOROCHOWETZ, Le Physiologiste russe, *3*, 50 (1905). — 3) J. STARKE, Ztsch. Biol., *40*, 419, 494 (1900); *68*, 147 (1917). — 4) L. K. WOLFF u. A. SMITS, Ebenda, *41*, 437 (1901. — 5) L. MOLL, Hofmeist. Beitr., *4*, 563 (1904); *7*, 311 (1905). — 6) R. B. GIBSON, Journ. Biol. Chem., *12*, 61 (1912). BYWATERS u. TASKER, Journ. of Physiol., *47*, 149 (1913). — 7) O. HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 467. — 8) TADDEI, Ann. of Philos., May 1820; Schweigg. Journ., *29*, 514 (1820). — 9) H. F. LINK, Schweigg. Journ., *14*, 294 (1815). — 10) BERZELIUS, Pogg. Ann., *10*, 247 (1827). — 11) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Amer. Journ. Physiol., *17*, 223 (1906). Über die Einheitlichkeit von Roggen- u. Weizengliadin sowie Kolloidchemie vgl. H. LÜERS, Koll. Ztsch., *25*, 177 u. 230 (1919). — 12) Y. HENDERSON, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 47 (1899). — 13) OSBORNE u. S. H. CLAPP, Amer. Journ. Physiol., *17*, 231 (1906). P. BERGELL, Mediz. Klin., *1*, 1042 (1905). OSBORNE u. H. GUEST, Journ. Biol. Chem., *9*, 425 (1911). OSBORNE, VAN SLYKE, LEAVENWORTH u. VINOGRAD, Ebenda, *22*, 259 (1915). — Optische Drehung von Gliadin: W. E. MATHEWSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 624 (1906). — 14) TH. B. OSBORNE, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.-meth., *2*, 270 (1909).

III. Die Gluteline.

Osborne charakterisiert diese gleichfalls von ihm aufgestellte Gruppe durch die Unlöslichkeit in allen neutralen Lösungsmitteln, so daß man diese Stoffe bloß nach Extraktion der Samen mit verdünnten Alkalien oder Säuren erhalten kann. Das Zymom von Taddei entspricht dieser Fraktion. Von Liebig sowie von Dumas und Cahours (1) wurde der betreffende Stoff als Pflanzenfibrin aus Weizen beschrieben. Ritthausen bezeichnete es wegen seiner angeblichen Ähnlichkeit mit Milchcasein als Glutencasein. Osborne wählte für den unlöslichen Anteil des Weizenklebers die Bezeichnung Glutenin. Wahrscheinlich kommt dieses Protein oder ein ähnliches auch in anderen Grassamen vor, doch kennt man bisher nur die Eigenschaften des Weizenglutenins genauer (2). Die Hydrolyse (Osborne und Clapp) ergab viel Glutaminsäure und Gegenwart aller drei Hexonbasen. Ob diese Proteine Phosphor enthalten, wie früher angegeben, ist sehr zweifelhaft.

IV. Samenglobuline Osbornes, oder Phytovitelline von Weyl.

Schon den älteren Forschern drängte sich die Meinung auf, daß die Reserveproteine der Samen biologische Beziehungen mit den Dotter- und Milcheiweißstoffen des Tierreiches haben könnten, und Vogel sowie Braconnot (3) verglichen sie mit dem Käsestoff der Milch; auch Liebig adoptierte für sie die Bezeichnung Pflanzencasein. In neuerer Zeit wurde diese Verwandtschaft durch Weyl nicht anerkannt, welcher vielmehr die Samenproteine wegen ihres Mangels an Phosphor und ihrer Salzlöslichkeit den tierischen Globulinen anreihte. Ebenso macht Osborne keinen Unterschied zwischen den Reserveproteinen der Samen und den Globulinen, wie sie sich im Serum finden. Ist es auch unsicher, ob diese Vereinigung mit Recht vorzunehmen ist, so wäre es tatsächlich gegenwärtig noch nicht leicht stichhältige Unterschiede zwischen beiden Gruppen aufzustellen. Es wurde zwar auch in neuerer Zeit wieder durch Wiman (4) die Behauptung aufgestellt, daß das Legumin phosphorhaltig ist, doch hat sich seither weder für dieses noch für ein anderes Samenglobulin ein Anhaltspunkt ergeben, daß es sich tatsächlich um phosphorhaltige Eiweißstoffe, analog den tierischen Phosphoproteinen, handeln könne.

Eine physikalisch-chemische Studie über die Pflanzenglobulinlösungen wäre sehr wünschenswert. Osborne und Harris (5) haben eine Reihe interessanter Befunde mitgeteilt, wonach Edestin aus Cannabissamen in Salzlösungen ungleiche Löslichkeitsverhältnisse zeigt. Salze starker Säuren mit starken Basen lösen am wenigsten; erst relativ konzentrierte Lösungen bringen das Globulin nennenswert in Lösung, und man kann durch Verdünnen mit Wasser oder durch Zusatz kleiner Säuremengen daraus das Eiweiß wieder erhalten. Hingegen bedarf man von Salzen schwacher Basen mit starken Säuren nur kleiner Konzentrationen, um das Edestin zu lösen, und man kann solche Lösungen nicht durch Verdünnen mit Wasser fällen. Salze starker Basen mit schwachen Säuren lösen mehr als Salze der gleichen Basen mit starken Säuren. Dies deutet

---

1) J. Liebig, Lieb. Ann., *39*, 129 (1841); Dumas u. Cahours, Ann. Chem. et Phys. (3), *6*, 385 (1842). — 2) Vgl. Prianischnikow, Landw. Vers.-stat., *60*, 15 (1905). J. S. Chamberlain, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1657 (1906). Norton, Ebenda, p. 8. — 3) Vogel, Schweigg. Journ., *20*, 59 (1817). H. Braconnot, Ann. Chim. et Phys. (2), *43*, 337 (1830). — 4) A. Wiman, Malys Jahresber., *27*, 21 (1897). — 5) Osborne u. Harris, Amer. Journ. of Physiol., *14*, 151 (1905).

unstreitig darauf hin, daß Edestin sich eher wie eine schwache Base verhält, und schon durch leicht hydrolytisch gespaltene Salze schwacher Basen mit starken Säuren in ionisiertes Eiweiß übergeht. Damit stimmen die Versuche von OSBORNE (1) über Edestinsalze mit Säuren gut überein. Man findet öfter, daß das Säureglobulin allein die charakteristische Salzlöslichkeit aufweist, während das Protein nach Neutralisation der Säure in Wasser vollständig löslich wird. Doch gibt es nach OSBORNE Edestinverbindungen mit dem doppelten Anteil an Säure, die in Wasser ebenfalls löslich sind. Die Hydrolyse von Edestin lieferte übereinstimmend mit diesen basischen Eigenschaften viel Arginin, außerdem besonders reichlich Leucin und Glutaminsäure (2)

Die Proteine der Edestingruppe krystallisieren so leicht, daß sie sich wie bekannt, häufig in den Samen in Form natürlicher Eiweißkrystalle, vorfinden. MASCHKE (3) hat zuerst aus Bertholletiasamen das Excelsin in Form künstlicher Krystalle wiedergewonnen. Nach OSBORNE dürften die Krystalle einer Säureverbindung des Excelsins angehören. Früher wurde, so von SCHMIEDEBERG (4), die Ansicht vertreten, daß es sich um eine Magnesiumverbindung des Excelsins handle; auch PALLADIN (5) meinte, daß häufig Kalksalze der Pflanzenglobuline vorkämen, die man früher als „Pflanzenmyosin" beschrieben habe. Nach dem Verhalten des Edestins ist es in der Tat wahrscheinlicher, daß die Eiweißkrystalle aus der Säureverbindung des Samenproteins oder aus dem freien Globulin bestehen.

Der ionische Eiweißcharakter der Samenglobuline tritt auch darin hervor, daß sie eine hohe Koagulationstemperatur bei 70—100° besitzen und oft unscharf begrenzt. Darin und auch durch die rote Nuance der Biuretprobe sowie durch die Löslichkeitsverhältnisse der Fällung mit HNO_3 in der Wärme erinnern sie an die Proteosen. Die zahlreichen Befunde über die Samenproteine hat OSBORNE mehrfach ausführlich zusammengestellt (6). Wahrscheinlich gehört auch der von KILIANI und KNOOP (7) untersuchte albumosenartige Eiweißstoff aus dem Milchsafte von Antiaris, welcher krystallisiert gewonnen werden konnte, mit in diese Gruppe von Proteinen hinein. Die Substanz hatte aber Säurecharakter und zeichnete sich durch ihren hohen Schwefelgehalt aus.

V. Phosphoproteine.

Dieselben wurden auch vielfach als Nucleoalbumine, von französischen Autoren als Nucleoproteide, bezeichnet. Wir rechnen hierher die phosphorhaltigen Eiweißkörper von schwach saurem Charakter, welche als Reservestoffe im tierischen Eidotter und in der Milch vorkommen. Im Pflanzenreiche ist kein Eiweißstoff bekannt geworden, der in diese Gruppe gerechnet werden könnte. Deshalb genügt es, die wichtigsten Eigenschaften der Phosphoproteine zum Vergleiche anzuführen.

---

1) OSBORNE, Ztsch. physiol. Chem., *33*, 225 (1901). Journ. Amer. Chem. Soc., *24*, 28 (1902). — 2) OSBORNE u. S. H. CLAPP, Amer. Journ. of Physiol., *19*, 53, 117 (1907). Edestinpepton: G. PETROW, Ann. Inst. Agronom. Moscou, *15*, 200 (1910). — 3) MASCHKE, Journ. prakt. Chem., *74*, 436 (1858). — 4) SCHMIEDEBERG, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 205 (1877). DRECHSEL, Journ. prakt. Chem., *19*, 331 (1879). GRÜBLER, Ebenda, *23*, 97 (1881). — 5) PALLADIN, Ztsch. Biolog., *31*, 191 (1895). — 6) OSBORNE, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *4*, 1 (1911). Ergebn. d. Physiologie, *10*, 47 (1910). The Vegetable Proteins London-New York 1909. (Plimmer-Hopkins Monographs.) Ferner JOHNS, Journ. Biol. Chem., *34*, 429 u. 439 (1918). — 7) H. KILIANI, Ber. chem. Ges., *46*, 677 (1913). Y. KOTAKE u. F. KNOOP, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 488 (1911).

Das Casein der Milch, welches wahrscheinlich hohe Artspezifität zeigt, die sich, wenn nicht in den quantitativen Verhältnissen der Aminosäuregruppen, so doch in deren Verknüpfung äußern dürfte (1), ist nach den Studien von LAQUEUR und SACKUR (2) eine mehrbasische Säure, deren Salze in der wässerigen Lösung hydrolytisch gespalten sind. Die vom Casein dargestellten Säureverbindungen dürften als Ionenadsorptionsverbindungen aufzufassen sein (3). Wie LUBAWIN (4) nachgewiesen hat, wird bei der Pepsin-HCl-Hydrolyse des Caseins neben Albumosen ein resistenterer phosphorhaltiger Komplex geliefert, das Pseudo- oder Paranuclein, das weiter unter Bildung von Phosphorsäure zerfällt. SALKOWSKI (5) hat aus dem Paranuclein die phosphorhaltige Paranucleinsäure dargestellt, die darin als Eiweißverbindung angenommen wird. Bei der tryptischen Hydrolyse fanden PLIMMER und BAYLISS binnen 24 Stunden den gesamten Phosphor abgespalten, davon sehr viel in organischer Form, während Pepsin nur organisch gebundenen P lieferte (6). Das bei der Einwirkung von Labenzym entstehende Paracasein ist stickstoffärmer als das native Casein (7).

Die totale Hydrolyse von Casein liefert ein nicht unähnliches Aminosäurengemisch wie die Hydrolyse von Edestin und seinen Verwandten (8). Für tiefgehende Differenz beider Eiweißarten spricht nach OSBORNE der Umstand, daß Penicillium Camemberti wohl auf Casein einwirkt, jedoch Samenproteine unverändert läßt.

Die als Vitellin bezeichneten Phosphoproteine aus dem Eidotter zeichnen sich durch ihren Gehalt an Eisen aus, sind aber im ganzen und großen in ihren Eigenschaften dem Casein analog (9). Auch hier gewinnt man, wie LEVENE und ALSBERG zeigten, Paranucleinsäure bei der Hydrolyse. Mit verdünnter (1%iger) Natronlauge kann man, wie PLIMMER (10) zeigte, aus den Phosphoproteinen den gesamten Phosphor bei 37° innerhalb 24 Stunden abspalten, was bei Nucleoproteiden nicht gelingt. Diese Reaktion

---

1) Vgl. F. TANGL, Pflüg. Arch., *121*, 534 (1908). J. H. LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 223 (1908). ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 458 (1906). ABDERHALDEN u. LANGSTEIN, Ebenda, *66*, 8 (1910). LAQUEUR, Diss. Breslau 1905. — 2) LAQUEUR u. SACKUR, Hofmeist. Beitr., *3*, 184 (1903). R. W. RAUDNITZ, Ergebn. d. Physiol., *2*, I, 217 (1904). L. VAN SLYKE u. HART, Amer. Chem. Journ., *33*, 461 (1905). J. H. LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 372 (1906). — 3) J. H. LONG, Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 1334 (1907). L. u. D. VAN SLYKE, Amer. Chem. Journ., *38*, 383 (1907). Journ. of biol. Chem., *4*, 259 (1908). T. BR. ROBERTSON, Ebenda, p. 35. Lactate: O. LAXA, Milchwirtsch. Zentr., *1*, 538 (1905). Aussalzen von Casein: C. SCHMIEDT-NIELSEN, Hofmeist. Beitr., *9*, 311 (1907). — 4) LUBAWIN, Hoppe-Seylers med.chem. Untersuchungen (1871), p. 463. Ber. chem. Ges., *10*, 2237 (1877). SEBELIEN, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 443 (1894). MORACZEWSKI, Ebenda, 28. SALKOWSKI, Pflüg. Arch., *63*, 401 (1896). WROBLEWSKI, Chem. Zentr. (1895), I, 229. GAY u. ROBERTSON, Journ. Biol. Chem., *12*, 233 (1912). — 5) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 245 (1901). Caseinpeptone: M. DIETRICH, Biochem. Ztsch., *22*, 120 (1909). Peptische Hydrolyse: ROBERTSON u. BIDDLE, Journ. Biol. Chem., *9*, 295 (1911). — 6) R. H. PLIMMER u. W. M. BAYLISS, Journ. of Physiol., *33*, 439 (1905); BOSWORTH, Journ. Biol. Chem., *19*, 67 (1914). — 7) W. LAQUEUR, Verh. Naturf. Ges., 1905, II, *2*, 414. Caseinogen: SCHRYVER, Proc. Roy. Soc., *86*, B, p. 460 (1913); GEAKE, Biochem. Journ., *8*, 30 (1914); SCHRYVER, Ebenda, p. 152; MELLANBY, Ebenda, *9*, 342 (1915). — 8) Vgl. OSBORNE u. GUEST, Journ. Biol. Chem., *9*, 333 (1911). — 9) Eidottervitellin: TH. B. OSBORNE u. G. F. CAMPBELL, Journ. Amer. Chem. Soc., *22*, 413 (1900). LEVENE u. ALSBERG, Ztsch. physiol. Chem., *31*, 543 (1901). PLIMMER, Journ. Chem. Soc., *93*, 1500 (1908). OSBORNE u. D. BR. JONES, Amer. Journ. of Physiol., *24*, 153 (1909). L. HUGOUNENQ, Compt. rend., *142*, 173 (1906). Journ. de Physiol., *8*, 209 (1906). Elementaranalyse phosphorhaltiger Eiweißstoffe: M. DENNSTEDT, Ztsch. physiol. Chem., *52*, 181 (1907). — 10) R. H. A. PLIMMER u. F. H. SCOTT, Journ. Chem. Soc., *93*, 1699 (1908). PLIMMER u. R. KAYA, Journ. of Physiol., *39*, 1 (1910); MAYNARD, Journ. Physic. Chem., *23*, 145 (1919).

läßt sich, wenn man vorher die Lecithide entfernt hat, zur Untersuchung der Phosphorlokalisation in den Geweben benutzen.

VI. Histone und Protamine.

Als Histone wird eine Gruppe tierischer Eiweißstoffe von ausgeprägt basischem Charakter zusammengefaßt, welche, an verschiedene Stoffe, wie Nucleine, Hämatin, gebunden, sehr weit verbreitet vorkommen. Da man sie auch im Pflanzenreiche erwarten darf, so seien ihre wichtigsten Merkmale kurz angeführt. Die Studien sind besonders an dem Histon aus dem Zellkernproteid der Erythrocyten der Gans angestellt (KOSSEL) (1), an dem Histon aus dem Thymusnucleoproteid von LILIENFELD (2), ferner an dem Globin, dem Paarling des Hämatins im Hämoglobin durch FR. N. SCHULZ (3).

Die in Wasser leicht löslichen Histone koagulieren nur aus salzhaltigem Wasser. Sie sind durch Ammoniumsulfat und Bittersalz aussalzbar. Bei Gegenwart von Ammoniumsalzen werden sie durch Ammoniak gefällt. Die Alkaloidreaktionen gelingen mit ihnen schon in neutraler Lösung. Die Biuretprobe fällt bei Histonen violett aus. MILLONS Probe geben die Histone sehr schwach. Die α-Naphtholprobe ist negativ. Der Stickstoffgehalt ist sehr hoch, beträgt über 18%, ja beim Scombron 19,79%. Bei der totalen Hydrolyse entstehen reichlich Diaminosäuren. Etwa $1/4$ des Gesamt-N kommt auf Argininруppen. Doch ist nach den Erfahrungen von ABDERHALDEN und RONA über die Hydrolyse von Thymushiston (4) die Mannigfaltigkeit der Aminosäurereste kaum eine geringere als bei anderen Proteinen, so daß es sich nicht um sehr einfach gebaute Eiweißkörper handeln kann. Aus dem osmotischen Druck berechnete MOORE (5) für ein Protamin oder Histon aus Echinus esculentus das Molekulargewicht 8780, darin etwa 40 Aminosäurereste. Nach KOSSEL und KRASNOSSELSKY (6) wird durch Pepsin aus Histonen Histopepton abgespalten, welches ebenso reich an Arginin ist wie das ursprüngliche Histon.

Die Protamine sind eine Reihe sehr merkwürdiger Eiweißstoffe aus Fischsperma, deren erster Vertreter im Lachssperma durch MIESCHER (7) 1874 gefunden worden ist. Ihre nähere Kenntnis verdankt man besonders den Forschungen von KOSSEL (8). Da ähnliche Stoffe in pflanzlichen Sperma-

---

1) A. KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 511 (1884). — 2) LILIENFELD, Ebenda, *18*, 473 (1893). HUISKAMP, Ebenda, *32*, 145 (1901); *34*, 32 (1901). ABDERHALDEN u. RONA, Ebenda, *41*, 278 (1904). MALENGREAU, La Cellule, *21*, Heft 1 (1904). C. FOÁ, Atti Acc. Linc., *13*, 414 (1904). — 3) FR. N. SCHULZ, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 449 (1898). Scombron: BANG, Ebenda, *27*, 463 (1899). — Vgl. noch: A. KOSSEL u. H. PRINGLE, Ebenda, *49*, 301 (1906). H. STEUDEL, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 442 (1909). A. ROLLETT, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *4*, 1 (1911). W. H. EDDY, Biochem. Bull., *2*, 419 (1913). KOSSEL u. EDLBACHER, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 264 (1915). — 4) ABDERHALDEN u. RONA, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 278 (1904). — 5) B. MOORE, WHITLEY u. WEBSTER, Biochem. Journ., *7*, 142 (1914). — 6) A. KOSSEL u. H. PRINGLE, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 301 (1906). T. KRASNOSSELSKY, Ebenda, 322. — 7) F. MIESCHER, Verhandl. Naturf. Ges. Basel, *6*, 138 (1874). Ber. chem. Ges., *7*, 376 (1874). Arch. exp. Pathol., *37*, 100 (1896). — 8) A. KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 176 (1896); *25*, 165 (1898); *26*, 588 (1899). KURAJEFF, Ebenda, *26*, 524 (1898); *32*, 197 (1901). GOTO, Ebenda, *37*, 94 (1902). Chemie der Spermatozoen: R. BURIAN, Ergebn. d. Physiol., *3*, I, 48 (1904). KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *40*, 311 (1903); KOSSEL u. DAKIN, Ebenda, p. 564; ebenda, *44*, 342 u. 347 (1905). KOSSEL, Biochem. Zentr., *5*, 1 (1906). KOSSEL u. CAMERON, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 457 (1912). KOSSEL u. WEISS, Ebenda, *78*, 402 (1912). KOSSEL u. PRINGLE, Ebenda, *49*, 301 (1906). A. ROLLETT, Biochem. Handlex. von Abderhalden, *4*, 157 (1911). M. NELSON-GERHARDT, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 264 (1919).

tozoiden vorkommen könnten, so sei auch über diese Eiweißgruppe kurz berichtet. Protamine sind aus ihrer wässerigen Lösung mit NaCl oder Ammoniumsulfat aussalzbar, bilden mit Säuren gut krystallisierende Verbindungen, und bekunden ihren stark basischen Charakter auch in der Reaktion gegen Lackmus. Die wässerige Lösung koaguliert nicht beim Erhitzen. Von den Eiweißreaktionen gelingen die Fällungen mit Schwermetallsalzen, mit den Alkaloidreagentien, letztere sogar in schwach alkalischer Lösung, ferner die Biuretprobe, wogegen die Proben von MILLON und von ADAMKIEWICZ-HOPKINS negativ ausfallen. Ebenso läßt sich in Protaminen kein Schwefel durch die bekannten Proben nachweisen. Der N-Gehalt beträgt 25—30%. Gegen 90% des Gesamt-N kommt auf Arginin, der Rest auf Prolin, Valin, Serin, Lysin, Histidin, Alanin, Leucin in verschiedenen Ausbeuten, aber nie alle gleichzeitig, manchmal nur 4—5 verschiedene Aminosäuren. KOSSEL hat mehrere Typen unter den Protaminen unterschieden. Bei den Protaminen der Salmingruppe, wie Clupein, Salmin, Scombrin, würden auf je einen Rest einer anderen Aminosäure zwei Arginylreste kommen, so daß Diarginylaminosäuren als Bauelemente anzunehmen wären. Die aus den Platinchloriddoppelverbindungen abgeleiteten Formeln für Protamine ergeben relativ hohe Werte (1). Pepsinsalzsäure greift die Protamine nur wenig oder gar nicht an. Erepsin hingegen soll sie wie Trypsin spalten und man erhielt bei der partiellen Hydrolyse als Zwischenprodukte die den Peptonen entsprechenden Protone (2). Durch Fällung von Eiweiß mittels Protaminen sind verschiedene Eiweißverbindungen derselben hergestellt worden (3).

Zur Darstellung der Protamine zieht KOSSEL nach Erschöpfung des Materiales mit Alkohol, dasselbe mit verdünnter Schwefelsäure aus, fällt aus dieser Lösung das Protaminsulfat durch Alkohol, löst den Niederschlag in Wasser und fällt nun mit Natriumpikrat aus. Nach Zusatz von Schwefelsäure zur Zerlegung des Pikrates wird die Pikrinsäure mit Äther ausgeschüttelt und so das reine Protaminsulfat gewonnen (4).

RUPPEL (5) fand in Tuberkelbacillen einen an Nuclein gebundenen Eiweißstoff, das Tuberculosamin, welches vielleicht zu den Protaminen gehört.

B. Die konjugierten Proteine.

Sie zeichnen sich durch die Anfügung mehrerer bis zahlreicher, oft hoch zusammengesetzter Gruppen aus, welche dem Eiweißkomplex sonst nicht eigen sind, wie Purin-, Pyrimidin- oder Pentosenreste. KOSSEL hat solche Gruppen „prosthetische Gruppen" genannt.

I. Die Glucoproteine.

Die als Glucoproteine zusammengefaßten tierischen Eiweißstoffe sind in allen Schleimabsonderungen reichlich zugegen, und die Mucine der Schleimsekrete stellen typische Glucoproteine dar. Selbst verdünnte wässerige Lösungen zeigen noch die starke fadenziehende Beschaffenheit.

---

1) KOSSEL u. DAKIN, l. c. Die Formel von L. NELSON, Arch. exp. Pathol., *59*, 331 (1908) mit C_{1*} für das Lachsprotamin muß wohl mindestens fünffach genommen werden. Vgl. auch A. E. TAYLOR, Journ. Biol. Chem., *5*, 381 u. 389 (1909). — β-Naphthalinsulfoprotamine: K. HIRAYAMA, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 285 (1909). — 2) A. KOSSEL u. F. WEISS, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 281 (1909). — F. ROGOZINSKI, Ebenda, *79*, 398 (1912). — 3) A. HUNTER, Ebenda, *53*, 526 (1907). — 4) Vgl. H. STEUDEL, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 446 (1909). — 5) W. RUPPEL, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 218 (1898).

Beim Kochen mit Säure spalten alle Glucoproteine viel Kohlenhydratgruppen ab. Da durch Ishii ein pflanzliches Mucin aus Dioscorea-Knollen beschrieben worden ist, so wäre noch weiter nach solchen Stoffen zu suchen; es könnten pflanzliche Membranschleime von Pilzen und Bacterien, vielleicht auch manchen Algen, echte Mucine enthalten.

Die fadenziehenden wässerigen Lösungen der Glucoproteine koagulieren nicht beim Erhitzen. Sie verlieren ihre schleimige Beschaffenheit leicht durch Behandlung mit Säure oder Alkali. Die Lösungen reagieren sauer und werden durch Säuren gefällt. Sehr verdünntes Alkali löst die Mucine besser als Wasser. Von den Eiweißreaktionen fällt die Millonsche Probe nur dürftig aus. Der Stickstoffgehalt der Mucine ist relativ gering, etwa 10—12%, der Sauerstoffgehalt größer als bei anderen Eiweißstoffen. Nach den Befunden von Fürth (1) scheinen die Kohlenhydratgruppen der Mucine aus niederen Tierklassen aus amidierten Derivaten vom Glucosamintypus zu bestehen. In einem Falle wiesen Schulz und Ditthorn (2) unter den Hydratationsprodukten Galactosamin nach (Eiweißdrüse des Frosches).

II. Die Nucleoproteide.

Diese wichtigen eiweißartigen Substanzen werden als Hauptbestandteile der Zellkerne betrachtet. Nach Kossel (3) nimmt man an, daß das Chromatin der Zellkerne aus Nucleoproteiden besteht. Abderhalden (4) gewann dafür Anhaltspunkte, daß diese Kernstoffe sogar Artunterschiede aufweisen dürften. Durch Anwendung von Nuclease als mikrochemisches Reagens überzeugte sich van Herwerden (5), daß außer dem Chromatin vieler Zellkerne auch die Volutinkörner von Bacterien und Hefen als Nucleinsäureverbindungen aufzufassen sind. Von Interesse ist die Feststellung durch Nemec (6), daß die Chromosomen in heißem Wasser löslich sind und daß diese Löslichkeit durch Alkohol wohl vermindert, aber nicht aufgehoben wird. Tröndle (7) wies nach, daß auch der Nucleolus von Spirogyra aus Nucleoproteiden besteht, im Gegensatze zu dem Kernkörperchen in den Kernen höherer Pflanzen.

Lange Zeit wurden phosphorhaltige Stammkörper der Nucleoproteide von den gleichfalls phosphorhaltigen Nucleoalbuminen nicht unterschieden, bis durch Kossel (8) 1879 bei dem von Hoppe-Seyler (9) entdeckten Hefenuclein Hypoxanthin unter den Spaltungsprodukten gefunden wurde, welchem sich bald Xanthin und Guanin anfügen ließen.

---

1) O. v. Fürth, Hofmeist. Beitr., *1*, 252 (1902); Vergleichende Physiologie (1903), p. 382. Kossel, Deutsche med. Woch.schr., *17*, 1297 (1891). Schneckenmucin: Braconnot, Ann. Chim. et Phys. (3), *16*, 313 (1846). O. Hammarsten, Pflüg. Arch., *36*, 373 (1886). F. Müller, Ztsch. Biol., *42*, 468 (1902). Malenük, Biochem. Zentr., *3*, Ref. 616 (1904). — Ovomucoid: C. Th. Mörner, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 430 (1912). J. Neumann, Ebenda, *89*, 149 (1914). Glucosamindarstellung: Oswald, Ebenda, *95*, 100 (1915). Hyalomucid: Cavazzani, Policlinico, *13* (1906). — 2) Fr. N. Schulz u. Ditthorn, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 373 (1900). Über Aminoglucoside und Glucoprotein: J. C. Irvine u. A. Hynd, Journ. Chem. Soc., *103*, 41 (1913). — 3) A. Kossel, Naturw. Rdsch., *26*, 221 (1911). Münch. med. Woch.schr., *58*, Heft 2 (1911). V. Ružicka, Botan. Zentr., *128*, 415 (1914). — 4) E. Abderhalden u. Kashiwado, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 285 (1912). H. G. Wells, Journ. Biol. Chem., *28*, 11 (1916). — 5) M. A. van Herwerden, Anatom. Anzeiger, *47*, 312 (1914). — 6) B. Nemec, Ber. botan. Ges., *27*, 43 (1909). Mikrochemie der Nucleoproteide: O. Tunmann, Pflanzenmikrochemie, Berlin 1913, p. 418. — 7) A. Tröndle, Ztsch. f. Botan., *4*, 721 (1912). Vgl. auch O. Gans, Deutsche med. Woch.schr., *39*, 1944 (1914). — 8) Kossel, Ztsch. physiol. Chem., *3*, 284 (1879). — 9) Hoppe-Seyler, Med.chem. Untersuchungen, Heft 1 (1866), p. 142; Heft 4, p. 500. Ztsch. physiol. Chem., *2*, 427 (1878).

Die von SALOMON (**1**) aufgestellte Ansicht, daß auch bei der Fibrinverdauung Xanthinbasen entstehen, erwies sich als irrig, weil aus den beigemengten Leukocyten Nucleoproteide mitgespalten werden; so konnte alsbald von KOSSEL (**2**) die Abspaltung von Xanthinbasen als eine charakteristische Eigenschaft der Nucleoproteide hingestellt werden. Der Versuch, Eiweiß-Metaphosphorsäureverbindungen mit Nucleinen zu vergleichen (**3**), führte schließlich zur Auffassung, daß eine Verwandtschaft der Nucleine mit solchen Phosphaten ausgeschlossen sei, wenn auch manche Ähnlichkeiten im reaktionellen Verhalten bestehen.

Ein wichtiger Fortschritt war die Erkenntnis KOSSELS (**4**), daß beim Aufbau bestimmter Zellkernproteide ein Histon beteiligt ist. 1889 lehrte ALTMANN (**5**), daß man aus den Nucleinen phosphorreiche Säuren abspalten kann, die Nucleinsäuren, welche sich mit Eiweiß und Proteosen zu nucleinähnlichen Niederschlägen vereinigen. Durch KOSSELS Arbeiten wurden die Spaltungsprodukte der Nucleinsäuren weiter aufgeklärt und nachgewiesen, daß neben Phosphorsäure regelmäßig Xanthin- und Pyrimidinbasen sowie Kohlenhydratgruppen gebildet werden.

KOSSEL und LILIENFELD (**6**) stellten für den Aufbau des Nucleoproteids der Erythrocyten des Gänseblutes folgendes Schema auf:

	1. Histon	
		1. Eiweiß
Nucleohiston löslich in Wasser; zerfällt bei Behandlung mit HCl, $Ca(OH)_2$ oder $Ba(OH)_2$ in:	2. Nuclein (Leukonuclein) hat sauren Charakter; aber löslich in Mineralsäuren. Zerfällt bei Behandlung mit starkem Alkohol in:	2. Nucleinsäure (hier Adenylsäure). Diese gibt bei der Säurehydrolyse Purinbasen, Thymin, Lävulinsäure und Phosphorsäure.

Die Resultate von LILIENFELD sind in neuerer Zeit durch STEUDEL (**7**) für das Thymus-Nucleohiston bestätigt worden. Die nativen Nucleoproteide sind schwer unzersetzt zu erhalten; am besten durch Anwendung kalter indifferenter Extraktionsmittel (**8**). Wenn man höhere Temperatur verwendet, so erhält man die bereits als Zersetzungsprodukte anzusprechenden „β-Nucleoproteide". Es handelt sich um wasserlösliche koagulierbare Stoffe, welche aussalzbar sind, Säurecharakter haben, und im übrigen Eiweißmerkmale besitzen. Den vorhandenen Elementaranalysen kann man noch keine definitive Geltung zuschreiben (**9**). Stets ergab sich ein hoher Phosphorgehalt, 0,3 bis 3,0% P.; Eisengehalt scheint in einer Reihe von Fällen nachgewiesen. Von den pflanzlichen Nucleoproteiden wurde dasjenige der Gerste durch PETIT (**10**), und durch ASCOLI (**11**) jenes der Hefe

---

1) G. SALOMON, Ber. chem. Ges., *11*, 574 (1878); *12*, 95 (1879); *13*, 1160 (1880). — **2**) KOSSEL, Verh. physiol. Ges., Berlin 1891. — **3**) LIEBERMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 598 (1888). Pflüg. Arch., *47*, 155 (1890). J. POHL, Ztsch. physiol. Chem., *13*, 292 (1889). GIERTZ, Ebenda, *28*, 115 (1899). E. FULD, Hofmeist. Beitr., *2*, 155 (1902). — **4**) KOSSEL, Pflüg. Arch. (1884), p. 307. Ztsch. physiol. Chem., *8*, 511 (1884). C. FOÀ, Atti Acc. Linc., *13*, 342 (1904). — **5**) R. ALTMANN, Arch. f. Physiol. (1889), p. 524. — **6**) A. KOSSEL u. LILIENFELD, Arch. f. Physiol. (1892), p. 128; KOSSEL u. NEUMANN, Ber. chem. Ges., *27*, 2215; C. FOÀ, Archiv. di Fisiol., *2*, 96 (1904). — **7**) H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *87*, 207 (1913). — **8**) Darstellung: FR. SAMUELY, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 449 (1909). P. HIRSCH, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *9*, 237 (1915). — **9**) Vgl. HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *19*, 19 (1894). UMBER, Zentr. Physiol. (1900), p. 462. — **10**) PETIT, Compt. rend., *111*, 995 (1893). Milznuclein: SATO, Biochem. Ztsch., *22*, 489 (1909). HUGOUNENQ u. MOREL, Compt. rend., *140*, 1065 (1905). — **11**) A. ASCOLI, Ztsch. physiol. Chem., *28*, 426 (1899).

als eisenhaltig angegeben. Doch hat SAUERLAND den Eisengehalt der echten Nucleinsäuren in Abrede gestellt (1). Das Eisen ist stets in einer durch die Reagentien auf zwei- und dreiwertige Eisen-Ionen nicht nachweisbaren Form gefunden worden. Über die optische Aktivität der Nucleoproteide haben GAMGEE und JONES (2) Untersuchungen angestellt.

Gewöhnlich versucht man die mikrochemische Erkennung der Nucleoproteide durch die intensive Speicherung bestimmter Anilinfarben in besonders nucleoproteidreichen Zellorganen zu führen: FLEMMINGS Chromatin des Zellkerns. Doch hat HEINE (3) darauf hingewiesen, daß man auf Grund dieses Verhaltens kaum eine Entscheidung über Lokalisation und Veränderung verschiedener Nucleoproteide führen kann, und daß Täuschungen nicht ausgeschlossen sind. Im allgemeinen dürfte es aber zutreffen, daß nucleoproteinreiche Zellorgane „basische Anilinfarben" im Sinne EHRLICHS stärker speichern als nucleinfreie Teile, und deshalb aus geeigneten Farbstoffmischungen wie Fuchsin-Methylenblau oder Fuchsin-Jodgrün den blauen resp. grünen Farbstoff an sich ziehen: AUERBACHS Chromatophilie, Cyanophilie, Erythrophilie (4). Doch ist es ganz unsicher mit AUERBACH auf die „Cyanophilie" und „Erythrophilie" die Existenz verschiedener Nucleine zu fundieren, ja selbst nicht sicher, ob in allen Fällen die „cyanophilen" Organe auch wirklich die nucleinreicheren sein müssen, wie verschiedenfach angenommen worden ist (5). Von MONTI und LILIENFELD, ferner von POLLACCI (6) wurde versucht, die Nucleoproteide durch eine Phosphorsäureprobe mit Ammoniummolybdat und Salpetersäure mikrochemisch nachzuweisen. Eine Kritik dieses Verfahrens hat HEINE (7) geliefert. Man hat ferner den Eisennachweis zur Nucleinprobe herangezogen, durch längere Behandlung mit Ammoniumsulfid und Anstellung der Berlinerblauprobe (MACALLUM) (8), oder nach Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure nach GILSON (9). Endlich wurde nach MIESCHERS Vorgang die Spaltung der Nucleoproteide mit Pepsin-HCl auf botanischem Gebiete besonders durch ZACHARIAS (10) benutzt, und aus dem Zurückbleiben „unverdaulichen Nucleins" auf Nucleoproteide geschlossen. Diese Probe ist nicht eindeutig, da Verdauungsfermente das Nuclein nicht unverändert lassen müssen, und noch andere komplexe Proteide und Protamine schwer angreifbare Rückstände liefern. Immerhin geben die chromatinreichen Zellkernchromosomen starke MILLONsche Probe, Eisenreaktion, Molybdänprobe neben der Farbstoffspeicherung, so daß man mindestens auf das Nebeneinandervorkommen von viel Eiweiß mit Nucleinsäuren schließen darf.

Das aus den Zellkernen der Erythrocyten des Gänseblutes abspaltbare Nucleohiston wurde von KOSSEL (11) näher charakterisiert. Auch das Histon aus dem Thymusnucleoproteid ist untersucht (12). Nach GOUBAU (13) wären

---

1) F. SAUERLAND, Ztsch. physiol. Chem., *64*, 16 (1910). — 2) A. GAMGEE u. W. JONES, Hofmeist. Beitr., *4*, 10 (1903). Proc. Roy. Soc., *72*, 100 (1903). — 3) L. HEINE, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 494 (1896). — 4) AUERBACH, Berl. Akad. (1891), p. 713. P. SCHOTTLAENDER, Ber. bot. Ges., *10*, 27 (1892). ROSEN, AUERBACH, Botan. Zentr., *50*, 8 (1892). ROSEN, Ebenda, *60*, 115 (1894). Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., *5* (1892). — 5) E. ZACHARIAS, Ber. botan. Ges., *11*, 188 (1893). LILIENFELD, Physiol. Ges., Berlin 1892/93, Nr. 2; Arch. Physiol (1893), p. 391. MALFATTI, Botan. Zentr., *55*, 152 (1893). — 6) LILIENFELD u. MONTI, Ztsch. physiol. Chem., *17*, 410; POLLACCI, Malpighia, *8*, 94. — 7) L. HEINE, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 132 (1896). RACIBORSKI, Botan.-Ztg. (1894), p. 245. — 8) MACALLUM, Ztsch. wiss. Mikrosk., *9*, 337 (1892). — 9) GILSON, Rep. Brit. Assoc. Advanc. Sci. (1892), p. 778. — 10) ZACHARIAS, Bot.-Ztg. (1881), p. 169, 827; (1882), p. 651; Ber. botan. Ges., *19*, 377 (1901); *11*, 293 (1893); *16*, 185 (1898). — 11) KOSSEL, Pflüg. Arch. (1884), p. 307. Ztsch. physiol. Chem., *8*, 511 (1884). — 12) LILIENFELD, Ebenda, *18*, 473 (1893). HUISKAMP, Ebenda, *32*, 145 (1901); *39*, 55 (1903). BANG, Hofmeist. Beitr., *4*, 115 (1903). Biochem. Zentr. (1903), Ref. 625. H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 291 (1914). — 13) F. GOUBAU, Bull. Ac. Roy. Belg. (1911).

zwei Formen des Histons zu unterscheiden: ein in 0,5 % NaCl unlösliches, das in der Thymusdrüse gefunden wird, und ein in dieser Salzlösung lösliches, das in anderen Organen verbreitet ist. Die Nucleohistone haben sauren Charakter. Ob immer Histone als Komponenten der Nucleoproteide auftreten müssen, ist zweifelhaft; MIESCHER wie KOSSEL zeigten, daß reifes Fischsperma an Protamine gebundene Nucleinsäure enthält. Über die Nucleinpaarlinge pflanzlicher Nucleoproteide ist bisher nichts bekannt.

LEVENE und MANDEL (1) haben bei der totalen Hydrolyse der Nucleoproteide aus Milz und Milchdrüse eine Reihe verschiedener Aminosäuren gefunden, darunter viel Glutaminsäure, aber nicht auffallend viel Hexonbasen. Es ist unsicher, welche derselben auf die Histonkomponente kommen.

Der bei der Pepsin-Salzsäure-Hydrolyse von Nucleoproteiden verbleibende unlösliche phosphorsäurereiche Rückstand wird seit MIESCHER als Nuclein bezeichnet. Hier ist der Gesamtphosphor des nativen Proteids vorhanden, dessen eiweißartiger Nucleinpaarling der weiteren Hydrolyse verfallen ist. Durch schwache Natronlauge läßt sich, wie KOSSEL zeigte, derselbe Effekt erzielen, und so wurde auch das Hefenuclein dargestellt. Ob in der lebenden Zelle irgendwo freies Nuclein vorkommt, ist unbekannt. Die bisher dargestellten Nucleine dürfen kaum als reine Stoffe angesehen werden. Man fand in ihnen 4—7 % P, ihre sauren Eigenschaften sind stärker ausgeprägt als bei den nativen Nucleoproteiden, ihre Löslichkeit in Säure ist gering. Pepsin-HCl löst den Angaben von MILROY (2) zufolge manche Nucleine. Auch UMBER (3) gab an, daß Pankreasnucleoproteid bei der peptischen Verdauung fast völlig in Lösung geht. Noch viel energischer wirken tryptische Enzyme ein, wie die Bildung von Xanthinbasen bei der Autolyse (Selbstgärung) der Hefe zeigt (SALKOWSKI) (4), und die Erfahrungen von POPOFF und ARAKI über Trypsinwirkung und Erepsinwirkung auf Nuclein lehren (5). Das Hefenuclein hatten vielleicht schon BRACONNOT und andere ältere Autoren in Händen (6). Eine genaue Beschreibung seiner Darstellung ist bei KOSSEL (7) einzusehen. Das von PETIT (8) aus Gerstenembryonen und gekeimter Gerste gewonnene Nucleinpräparat dürfte noch viel unzersetztes Nucleoproteid eingeschlossen haben.

Nach STUTZER (9) enthalten Schimmelpilze vom Gesamt-N 19,86 % Amid- und Pepton-N, 39,39 % Eiweiß-N und 40,75 % Nucleinstickstoff. Hefe enthält 10,11 % Amid- und Pepton-N, 63,80 % Eiweiß-N und 26,09 % Nuclein-N. Dabei ist es allerdings fraglich, ob auch der ganze „Nuclein-N" Nucleoproteiden entspricht. KLINKENBERG (10) bestimmte bei verschiedenen pflanzlichen Materialien den „Nuclein-N", Nucleinschwefel und Nucleinphosphor und fand, daß sich die Relation von P : N : S bei Mohnsamen, Erdnuß, Raps und Baumwollsamen annähernd gleich stellte, während die Hefe abwich.

---

1) LEVENE u. J. A. MANDEL, Biochem. Ztsch., *5*, 33 (1907). MANDEL, Ebenda, *23*, 245 (1909). — 2) T. H. MILROY, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 307 (1896). — 3) F. UMBER, Zentr. Physiol. (1901), p. 334. — 4) SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *13*, 506 (1881). M. SCHENK, Ztsch. Spirit. ind., *28*, 397 (1905). Woch.schr. f. Brauerei (1905), Nr. 16. REH, Hofmeist. Beitr., *3*, 569 (1903) fand bei Autolyse von Lymphdrüsen auch Uracil und Thymin. — 5) P. M. POPOFF, Ztsch. physiol. Chem., *18*, 533 (1894). ARAKI, Ebenda, *38*, 84 (1903). — 6) BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys., *47*, 60 (1831). QUEVENNE, Journ. Pharm. et Chim., *24*, 265 (1838). SCHLOSSBERGER, Lieb. Ann., *51*, 193. PASTEUR, Die Alkoholgärung (1858), p. 86. BÉCHAMP, Compt. rend., *61*, 689 (1868). — 7) KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *3*, 284 (1879); *4*, 290 (1880). — 8) PETIT, Compt. rend., *111*, 995 (1893). — 9) STUTZER, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 155 u. 572 (1882). — 10) W. KLINKENBERG, Ebenda, p. 566.

Von Elementaranalysen der Nucleine seien folgende angeführt.

Hefenuclein nach KOSSEL: 40,81% C; 5,38% H; 15,98% N; 6,19% P; 0,38% S.

Gerstennuclein nach PETIT: 43,18% C; 6,64% H; 12,86% N; 1,11% P; 0,195% Fe.

Leukocytennuclein nach HOPPE-SEYLER: 49,58% C; 7,10% H; 15,02% N; 2,28% P.

Über quantitative Nucleinbestimmung sind die Angaben von KOSSEL (1) zu vergleichen.

Wie erwähnt, liefern die Nucleine bei vorsichtiger Spaltung einerseits Eiweißkomplexe in geringer Menge, andererseits Nucleinsäure, welche letztere den gesamten Nucleinphosphor enthält. Eine andere Spaltung des Nucleins würde nach SIEGFRIED (2) bei der Bildung der Phosphorfleischsäure des Muskelextraktes unterlaufen, welche SIEGFRIED als peptonartiges Nuclein, „Nucleon", ansieht. Die Nucleinsäuren wurden zuerst durch ALTMANN (3) unzersetzt gewonnen, der auch erkannte, daß das von MIESCHER (4) aus Lachssperma dargestellte „Nuclein" eine Nucleinsäure gewesen ist. Abgesehen von der Myconucleinsäure aus Hefe und der Triticonucleinsäure aus Weizensamen sind die besser untersuchten Nucleinsäurenpräparate tierischer Provenienz. Sie sind bedeutend reinere Präparate als die Nucleine selbst. Um die Methodik der Darstellung haben sich besonders KOSSEL und NEUMANN (5), sodann BANG, LEVENE und OSBORNE verdient gemacht (6). Die Thymusnucleinsäure untersuchten ferner STEUDEL, LEVENE sowie JONES und AUSTRIAN (7), die nahe verwandten Stoffe aus Fischsperma LEVENE, ALSBERG, INOUYE und andere (8), LEVENE die Nucleinsäure aus Milz (9), die Pankreasnucleinsäure unter anderen FÜRTH sowie FEULGEN (10), jene aus Milchdrüse MANDEL und LEVENE (11), INOUYE die Darmnucleinsäure (12), MANDEL und LEVENE die Nierennucleinsäure (13), die Nucleinsäure aus der menschlichen Plazenta KIKKOJI (14). Man neigt gegenwärtig zu der Annahme, daß die meisten dieser Stoffe miteinander identisch sein dürften und eine in den

---

1) KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *7*, 7 (1883). — 2) M. SIEGFRIED, Ber. chem. Ges., *28*, 515 (1895). TH. R. KRÜGER, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 95 (1896). PANELLA, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 1405. — 3) R. ALTMANN, Arch. Physiol. (1889), p. 524. — 4) MIESCHER, Verh. Naturf. Ges., Basel, *6*, 138 (1874). — 5) A. KOSSEL u. A. NEUMANN, Arch. Physiol. (1894), p. 194; NEUMANN, Ebenda (1899), Suppl., p. 552. O. SCHMIEDEBERG, Arch. exp. Pathol., *57*, 309 (1907). — 6) J. BANG u. RAASCHOU, Hofmeist. Beitr., *4*, 175 (1903). Biochem. Zentr. (1903), Ref. 624. P. A. LEVENE, Chem. Zentr. (1901), II, 644; Ztsch. physiol. Chem., *32*, 541 (1901). Zentr. Physiol. (1909), p. 488; Journ. Amer. Chem. Soc., *22*, 329 (1900). OSBORNE, Ztsch. physiol. Chem., *36*, 85 (1902). MENDEL u. UNDERHILL, Amer. Journ. of Physiol., *8*, 377 (1903). H. STEUDEL, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 570 (1909). A. W. PETERS, Journ. Biol. Chem., *10*, 373 (1911). — 7) Thymonucleinsäure: H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 402; *46*, 332 (1905); *49*, 406 (1906); *53*, 14 (1907); *77*, 497 (1912). LEVENE u. MANDEL, Ber. chem. Ges., *41*, 1905 (1908); LEVENE u. JACOBS, Journ. Biol. Chem., *12*, 377 u. 411 (1912). W. JONES u. AUSTRIAN, Ebenda, *3*, 1 (1907). MARSHAL jr., Journ. Biol. Chem., *15*, 81 (1913). FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 261 (1914). GERMANN, Journ. Biol. Chem., *25*, 189 (1916). — 8) K. INOUYE, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 181 (1906); LEVENE u. MANDEL, Ebenda, *49*, 262 (1906); *50*, 1 (1906); STEUDEL, Ebenda, *49*, 406 (1906); *53*, 14 (1907); *83*, 72 (1913). — 9) LEVENE u. MANDEL, Journ. exp. Med., *8*, 178 (1906). Ztsch. physiol. Chem., *45*, 370 (1905); *47*, 151 (1906). — 10) O. v. FÜRTH u. E. JERUSALEM, Hofmeist. Beitr., *10*, 174 (1907); *11*, 146 (1907); R. FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 370 (1913). KNOPF, Ebenda, *89*, 170 (1914). — 11) J. A. MANDEL u. LEVENE, Ebenda, *46*, 155 (1905). Biochem. Ztsch., *23*, 245 (1909). — 12) K. INOUYE, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 201 (1905). — 13) MANDEL u. LEVENE, Ebenda, *47*, 140 (1906). — 14) T. KIKKOJI, Ebenda, *53*, 411 (1907).

meisten tierischen Organen verbreitete echte Nucleinsäure anzunehmen sei (1). Bei der durch NEUMANN eingeführten Darstellung von Nucleinsäure aus tierischen Organen wird das durch Aufkochen mit leicht essigsaurem Wasser gehärtete Organ zerkleinert und mit verdünnter Natronlauge bei Gegenwart von Natriumacetat in der Wärme extrahiert. Dieses Verfahren beruht darauf, daß nur die freien Nucleinsäuren, nicht aber deren Salze, gegen Kochen mit verdünnter Säure oder Alkali empfindlich sind.

Freie Nucleinsäure ist in kaltem Wasser wenig löslich aber quellbar, doch gibt es auch eine leichter lösliche Hydratstufe. Alkalien lösen sie leicht und aus dieser Lösung wird sie durch Mineralsäuren, auch durch verdünnten, schwach sauren Alkohol gefällt. Nucleinsäurelösungen sind optisch-aktiv, rechtsdrehend (2). Nucleinsäure wird durch die Alkaloidreagentien, sowie durch Schwermetallsalze gefällt. Die früher angegebene Xanthoproteinreaktion sowie die Probe nach ADAMKIEWICZ-HOPKINS rühren von verunreinigendem Eiweiß her. Der Phosphorgehalt ist ungefähr 9%. Schwefel ist nicht vorhanden, Eiweißkomplexe nicht nachweisbar. Für die Thymusnucleinsäure wird als prozentische Zusammensetzung 57,18% C, 4,14% H, 15,14% N und 8,94% P angegeben. STEUDEL berechnet als Formel $C_{43}H_{57}N_{15}O_{30}P_4$. Eisengehalt wird in neuerer Zeit in Abrede gestellt.

Die pflanzlichen Nucleinsäuren lassen noch manchen Zweifel offen. Die Hefenucleinsäure, welche SLADE (3) nach dem Verfahren von NEUMANN darstellte, wurde von BOOS (4), KOWALEWSKY (5) und durch LEVENE (6) untersucht. Soweit die differierenden Analysenergebnisse einen Schluß erlauben, dürfte die Myconucleinsäure kohlenstoffärmer sein als die tierische Nucleinsäure, hat jedoch denselben Stickstoff- und Phosphorgehalt. LEVENE kam zur Aufstellung der Formel $C_{38}H_{49}N_{15}P_4O_{29}$. Die von OSBORNE und HARRIS zuerst aus dem Embryo des Weizenkorns dargestellte Triticonucleinsäure (7) könnte nach LEVENE mit der Myconucleinsäure identisch sein, doch ist diese Nucleinsäure schwierig rein darzustellen, so daß erhebliche Differenzen in der elementaren Zusammensetzung zwischen beiden Nucleinsäurepräparaten bestehen. Die wässerige Lösung der Triticonucleinsäure ist optisch aktiv, rechtsdrehend, sowie die übrigen Nucleinsäuren. Noch weniger darf man von der aus Tuberkelbacillen von LEVENE dargestellten Nucleinsäure hoffen, daß es sich um ein genügend reines Präparat handele (8).

Oxydationsversuche mit Nucleinsäure haben KUTSCHER und SEEMANN (9) unter Anwendung von Calciumpermanganat unternommen, wobei Harnstoff und Imidoharnstoff, jedoch keine Harnsäure erhalten wurde, weil

---

1) Vgl. W. JONES, Journ. Biol. Chem., *5*, 1 (1908). A. ROLLETT, Abderhaldens biochem. Handlexikon, *4*, 997 (1911). P. A. LEVENE, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 231 (1910). — 2) Vgl. hierzu: FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 189 (1919). — 3) H. B. SLADE, Amer. Journ. of Physiol., *13*, 464 (1905). — 4) W. F. BOOS, Arch. exp. Pathol., *55*, 16 (1906). Journ. Biol. Chem., *5*, 469 (1909). — 5) K. KOWALEWSKY, Ztsch. physiol. Chem., *69*, 248 (1910). — 6) P. A. LEVENE, Biochem. Ztsch., *17*, 120 (1909); Ber. chem. Ges., *42*, 2474 u. 2703 (1909); *43*, 3150 (1910); *44*, 1027 (1911); *45*, 608 (1912). A. CH. CHAPMAN, Analyst, *43*, 259 (1918). — 7) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Rep. Connecticut Agr. Exp. Sta. (1901), p. 365; Amer. Journ. of Physiol., *9*, 69 (1903); LEVENE u. LA FORGE, Ber. chem. Ges., *43*, 3164 (1910). — 8) LEVENE, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 541 (1901). Für Nuclein aus Bac. coli commune: M. F. LEACH, Journ. Biol. Chem., *1*, 463 (1906). — 9) F. KUTSCHER u. J. SEEMANN, Ber. chem. Ges., *36*, 3023 (1903). BURIAN, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 494 (1905).

letztere bei der Permanganatoxydation weiter abgebaut wird. STEUDEL (1) hat durch die Einwirkung von Salpetersäure neben Xanthin- und Pyrimidinbasen und Oxalsäure eine Kohlenhydratsäure dargestellt, die er vorläufig als „Epizuckersäure" bezeichnete.

Die Verbindungen der Nucleinsäure mit Anilinfarbstoffen sind nach FEULGEN (2) als Salze aufzufassen. Ob aber alles das, was die Cytologen als „Chromatin" bezeichnen, mit Nucleinsäure identisch ist, erscheint durch die Angaben von MASING (3) zweifelhaft, indem es sich nachweisen ließ, daß im Cytoplasma des unbefruchteten Seeigeleies eine große Menge Nucleinphosphor enthalten ist, so daß man die Chromatinvermehrung während des Furchungsvorganges, für die LOEB an der Hand der bisherigen Vorstellungen mit Recht eine ausgiebige Nucleinsynthese postuliert hat, nicht von einer entsprechenden Nucleinvermehrung begleitet sieht. Manche Verwirrung in der Erforschung der Nucleinsäuren ist durch die Tatsache entstanden, daß in mehreren Fällen die echte Nucleinsäure von einfacher gebauten Stoffen begleitet wird, die unverkennbar in genetischer Verbindung mit der Nucleinsäuresynthese in der Zelle stehen, da ihre Bestandteile jenen der Nucleinsäuren sehr nahestehen, und nur der einfache Aufbau den Unterschied zwischen ihnen und den Nucleinsäuren abgibt. Man kennt zwei solche Stoffe aus dem Tierreiche genauer. Der eine ist die von HAMMARSTEN und von BANG aus der Pankreasdrüse isolierte Guanylsäure (4), welche bei der totalen Hydrolyse als einziges stickstoffhaltiges Produkt Guanin liefert, als Kohlenhydrat die Pentose d-Ribose und Phosphorsäure. STEUDEL sowie LEVENE geben der Guanylsäure eine viel kleinere Formel als BANG, nämlich $C_{10}H_{14}N_5PO_8$. Die bereits von LIEBIG 1847 im Muskel entdeckte Inosinsäure (5) scheint nach LEVENE und JACOBS (6) in ähnlicher Weise eine Verbindung von je einem Äquivalent Phosphorsäure, Pentose (Ribose?) und Hypoxanthin zu sein. Die sogenannte Glucothionsäure aus Milz und verschiedenen anderen tierischen Organen ist noch wenig geklärt (7). Sie sei hier erwähnt, da sie aus Nucleoproteidpräparaten dargestellt worden ist. Es handelt sich um eine Schwefel, in Form gepaarter Schwefelsäure, und Stickstoff, angeblich auch nicht wenig Phosphor enthaltende Substanz, deren Spaltungsprodukte noch eines näheren Studiums bedürfen. Wahrscheinlich werden solche den echten Nucleinsäuren anzureihende einfachere Stoffe auch in Pflanzen nachzuweisen sein, doch fehlen bisher Angaben völlig.

In der Besprechung des Aufbaues der echten Nucleinsäuren wollen wir wie bei den Eiweißkörpern die Produkte der totalen Hydrolyse zuerst betrachten.

1. Phosphorsäure. SCHMIEDEBERG (8) hat zuerst darauf hingewiesen, daß dieselbe in esterartiger Bindung vorliegen dürfte und daß vier Atome

1) H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 425; *50*, 538 (1906); *52*, 62 (1907). — 2) R. FEULGEN, Ebenda, *80*, 73 (1912); *84*, 309 (1913). — 3) E. MASING, Ebenda, *67*, 161 (1910). — 4) J. BANG, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 133 (1898); Hofmeist. Beitr., *11*, 76 (1907); W. JONES u. ROWNTREE, Journ. Biol. Chem., *4*, 289 (1908); *12*, 31 (1912); H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *53*, 539 (1907); *68*, 40 (1910); LEVENE u. MANDEL, Biochem. Ztsch., *10*, 221 (1908). BANG, Ebenda, *26*, 293 (1910); LEVENE u. JACOBS, Ber. chem. Ges., *42*, 2469 (1909); Journ. Biol. Chem., *12*, 421 (1912). KJ. O. AF KLERCKER, Biochem. Ztsch., *47*, 331 (1912). KNOPF, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 159 (1914). FEULGEN, Ebenda, *106*, 249 (1919). — 5) J. LIEBIG, Lieb. Ann., *62*, 317 (1847). — 6) LEVENE u. JACOBS, Ber. chem. Ges., *42*, 1198 (1909); *44*, 746 (1911); *41*, 2703 (1908); NEUBERG, Ebenda, p. 3376; F. BAUER, Hofmeist. Beitr., *10*, 345 (1907). HAISER u. WENZEL, Monatsh. Chem., *31*, 357 (1910). — 7) Vgl. J. A. MANDEL u. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *13*, 142 (1908). LEVENE u. MANDEL, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 151 (1906); ebenda, *45*, 386 (1905). — 8) SCHMIEDEBERG, Arch. exp. Pathol., *43*, 57 (1899). C. L. ALSBERG, Ebenda, *51*, 239.

Phosphor auf ein Molekül Nucleinsäure kommen. STEUDELS Versuche bestätigten, daß in der Tat vier Phosphorsäurereste, und zwar an Kohlenhydratgruppen gebunden im Nuclein anzunehmen sind.

2. Kohlenhydratgruppen. KOSSEL (**1**) hat unter den Produkten der Säurehydrolyse der Hefenucleinsäure Pentose und Hexose nachgewiesen. HAMMARSTEN und BANG (**2**) fanden hierauf Pentose auch bei der Untersuchung der Pankreasnucleinsäure. Andererseits wiesen KOSSEL und NOLL (**3**) nach, daß bei der Säurehydrolyse der Nucleinsäure Lävulinsäure entsteht. Durch die Arbeiten von STEUDEL (**4**) ist die Auffassung begründet worden, daß die tierische Nucleinsäure unter ihren Kohlenhydratgruppen nur Hexosenreste besitzt. Da die Thyminsäure (ein Nucleinsäure-Derivat, welches noch alle PO_4- und Kohlenhydratgruppen enthält) hinsichtlich der leichten Zerstörbarkeit der Zuckergruppen, der Empfindlichkeit gegen Alkali, der grünen Fichtenspanreaktion und der intensiven SCHIFFschen Aldehydprobe überraschend übereinstimmt mit dem Glucal von E. FISCHER, so nahm FEULGEN (**5**) an, daß in der Nucleinsäure eine dem Glucal nahestehende Kohlenhydratgruppe vorgebildet ist. Glucal ist ein aldehydartiges Glucosederivat, welches einen Furanring enthält; vielleicht

```
            H · C——CH · OH
                |      |
HO · H2C · HC      C : CH · OH
                 \  /
                  O
```

Im Zusammenhang damit wurde man auch die Formel der echten Nucleinsäure modifizieren müssen und für nucleinsaures Natron das Molekulargewicht 1390 und die Zusammensetzung $C_{43}H_{47}O_{25}N_{15}Na_4$ anzunehmen haben. Die aus tierischer Nucleinsäure gewonnene Pentose entstammt nicht der wahren Nucleinsäure, sondern gehört dem Komplex der Guanylsäure an. Es ist nachgewiesen, daß es sich stets um d-Ribose handelt (**6**). Hingegen führt man bei der Myconucleinsäure die hier gleichfalls auftretende d-Ribose auf Gruppen zurück, die der Nucleinsäure selbst angehören, während die Hexosegruppen dem beigemengten Hefegummi entstammen sollen. Sowohl bei Guanylsäure als bei der Myco- und Triticonucleinsäure gelang es LEVENE und JACOBS zu zeigen, daß die Pentose einem Guanin-Ribosid-Komplex angehört, ein Stoff, der auch sonst in Pflanzen beobachtet wird und den Namen Vernin trägt. Als Produkt der Guanylsäure hatte man es als Guanosin bezeichnet, bis SCHULZE und TRIER (**7**) die Identität mit Vernin nachwiesen.

3. Purinbasen. Die Bildung von Purin- oder Alloxurbasen aus Nuclein wurde 1879 zuerst für das Hefenuclein durch KOSSEL erwiesen,

---

1) KOSSEL, Verhandl. physiol. Ges., Berlin 14. Okt. 1892. — **2**) HAMMARSTEN, Ztsch. physiol. Chem., *19*, 19 (1894). BANG, Ebenda, *26*, 133 u. 145 (1898). — **3**) NOLL, Ebenda, *25*, 430 (1898). KOSSEL u. NEUMANN, Ber. chem. Ges., *27*, 2215 (1894). K. INOUYE, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 117 (1904). — **4**) H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *55*, 407; *56*, 212 (1908). — **5**) FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 154 (1914); ebenda, *100*, 241 (1917); *104*, 1 (1918). — **6**) LEVENE u. JACOBS, Ber. chem. Ges., *42*, 2102 u. 3247 (1909). C. NEUBERG, Ebenda, 2806. LEVENE u. JACOBS, Ebenda, *43*, 3147 (1910). NEUBERG, Ebenda, p. 3501; REWALD, Ebenda, 3502; TH. R. OFFER, Hofmeist. Beitr., *8*, 399 (1906). J. v. BRAUN, Ber. chem. Ges., *46*, 3949 (1913). Früher: NEUBERG, Ebenda, *35*, 1467 (1902). WOHLGEMUTH, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 475 (1903). LEVENE, Ebenda, p. 402. ARAKI, Ebenda, *38*, 98 (1903). J. BANG, Deutsche med. Woch.schr. (1897), p. 324. LANGSTEIN, Ergebn. d. Physiol., *1*, I, (1902). VAN EKENSTEIN u. BLANKSMA, Chem. Weekbl., *11*, 182 (1914). — **7**) E. SCHULZE u. G. TRIER, Ztsch. physiol. Chem., *70*, 143 (1910).

der daraus Hypoxanthin und Xanthin, sodann auch Guanin und Adenin darstellte (**1**). Ohne daß der Zusammenhang mit den Nucleinen klargelegt wurde, war bereits 1850 das Hypoxanthin durch Scherer (**2**) aus Ochsenmilz gewonnen worden. Kossel schlug vor, als diese Xanthinbasen als charakteristische Spaltungsprodukte der Nucleine sichergestellt worden waren, dieselben als Nucleinbasen zu bezeichnen. Ihr Vorkommen als regelmäßige Abbauprodukte der Nucleine ist von hohem biologischen Interesse, weil es nahe liegt, die frei im Tier- und Pflanzenkörper vorkommenden Purinderivate, wie die Harnsäure der Tiere und die Methylxanthine der Pflanze, mit den Nucleinen in genetischen Zusammenhang zu bringen. In der Tat hat Spitzer (**3**) für Xanthin und Hypoxanthin, sowie Schittenhelm (**4**) für Adenin und Guanin gezeigt, daß diese Stoffe durch Gewebsfermente von Milz, Leber und Lunge fast quantitativ in Harnsäure übergeführt werden. Es wäre interessant andererseits die Wirkung pflanzlicher Gewebsfermente auf die Nucleine kennen zu lernen.

Wie E. Fischer (**5**) gezeigt hat, stehen alle vier Nucleinbasen in engstem gegenseitigen Zusammenhang. Von der Stammform der ganzen Gruppe, dem Purin $C_5H_4N_4$ ausgehend, welche die tautomeren Formen

```
N=CH                        N=CH
|   |                       |   |
CH  C—N\                    CH  C—NH\
||  ||   >CH    oder        ||  ||    >CH
N—C—NH/                     N—C—N  /
```

haben kann, und welches den Kohlenstoffkern des Purins

```
1) N—6) C
   |     |
2) C  5) C—7) N\
   |     |      >8) C
3) N—4) C—9) N/
```

enthält, der zwei Harnstoffresten und einer verbindenden ungesättigten dreigliedrigen Kohlenstoffkette entspricht, kann man auffassen:

das Hypoxanthin als 6-Oxypurin:

```
NH—CO
|   |
CH  C—NH\
||  ||    >CH
N——C—N //
```

das Xanthin als 2,6-Dioxypurin:

```
NH—CO
|   |
CO  C—NH\
|   ||    >CH
NH—C—N //
```

1) Kossel, Ztsch. physiol. Chem., *3*, 284; *4*, 290; *5*, 267; *6*, 422 (1882). Ber. chem. Ges., *18*, 1928 (1885). — **2**) Scherer, Lieb. Ann., *73*, 328 (1850). — **3**) W. Spitzer Arch. Physiol., *76*, 192 (1899). Die ersten Versuche rühren her von T. Horbaczewski, Monatsh. Chem., *12*, 221 (1891). — **4**) A. Schittenhelm, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 251 (1904); *43*, 228 (1904); *50*, 30 (1906); *77*, 77 (1912); Abderhalden, Handb. biochem. Arb.meth., *3*, 420 (1910); M. Ascoli u. G. Izar, Biochem. Ztsch., *10*, 356 (1908). — **5**) E. Fischer, Ber. chem. Ges., *30*, 549 (1897); *31*, 2550 (1898); *32*, 435 (1899). Mikrochemischer Nachweis der Purinbasen: J. Courmont u. Ch. André, Soc. Biol., *57*, 131 (1904). Synthese der Xanthinstoffe: W. Traube, Lieb. Ann., *331*, 64 (1904); C. O. Johns, Journ. Biol. Chem., *11*, 67 (1912). W. Traube u. Dudley, Ber. chem. Ges., *46*, 3839 (1913). C. Brahm in Biochem. Handlexikon (Abderhalden), *4*, 1014 (1811). Dexoxyxanthine: J. Tafel u. Frankland, Ber. chem. Ges., *42*, 3138 (1909).

das Adenin als 6-Aminopurin:

$$\begin{array}{lll} N = & CNH_2 & \\ | & | & \\ CH & C - NH & \diagdown \\ \| & \| & \quad > CH \\ N - & C - N & \diagup \end{array}$$

das Guanin endlich als 2-Amino-6-Oxypurin:

$$\begin{array}{llll} & NH - & CO & \\ & | & | & \\ NH_2 \cdot & C & C - NH & \diagdown \\ & \| & \| & \quad > CH \\ & N - & C - N & \diagup \end{array}$$

Das Hypoxanthin wurde von KOSSEL aus dem mit Barythydrat neutralisierten Schwefelsäure-Hydrolysengemisch durch Ausfällung mit ammoniakalischer Silberlösung erhalten. KOSSEL wies es später auch in Weizenkleie, in Lycopodium und Senfsamen nach, SALOMON in Lupinensamen, wo es überall mit dem Nucleinstoffwechsel zusammenhängen dürfte. Ein quantitatives Verfahren mit Bestimmung als Hypoxanthinsilberpikrat hat BRUHNS (1) ausgearbeitet.

Auch das Xanthin ist durch verschiedene Untersuchungen als sehr verbreitetes Spaltungsprodukt von Nucleinsäure erkannt worden. Es läßt sich durch die leichtere Löslichkeit seiner Silberdoppelverbindung vom Hypoxanthin trennen und durch Ammoniak aus der Lösung fällen (2).

Das Adenin wurde zuerst aus Rinderpankreas durch KOSSEL (3) dargestellt und hierauf auch aus Hefenuclein gewonnen. Nach BRUHNS (4) läßt es sich vom Hypoxanthin durch Überführung in die Pikrate trennen. Adeninpikrat ist schwer löslich, das Hypoxanthinsalz in kaltem Wasser leicht löslich. Es gibt nach BRUHNS auch eine Adenin-Hypoxanthinverbindung.

Aus Hefe isolierten MANDEL und DUNHAM (5) eine Adenin-Hexoseverbindung. Das von UNGER (6) im Guano entdeckte Guanin endlich wurde als Produkt der Hefeautolyse von SCHÜTZENBERGER (7) neben Xanthin und Hypoxanthin gefunden. KOSSEL und SCHINDLER (8) bestätigten diesen Befund. LIPPMANN (9) fand seine Entstehung aus Vernin bei der Spaltung mit Salzsäure. Mit konzentrierter HCl auf 200° erhitzt zerfällt es glatt in Ammoniak, CO_2, Ameisensäure und Glykokoll. Adenin erleidet dieselbe Spaltung. Durch Ammoniakabspaltung und Wasseraufnahme bei der Fäulnis gibt Adenin Hypoxanthin und Guanin Xanthin.

Alle vier Basen fällt man aus dem Hydratationsgemisch mit ammoniakalischem Silbernitrat, zersetzt den Niederschlag mit heißer Salpetersäure und erhitzt unter Zusatz von Harnstoff bis zur Lösung. Beim Erkalten scheiden sich die $AgNO_3$-Doppelsalze des Guanins, Adenins und Hypoxanthins krystallinisch aus, während die Xanthinverbindung in Lösung bleibt und daraus durch NH_3 gefällt werden muß. Die drei erstgenannten Basen werden durch Zerlegung der Silberverbindung mit Schwefelammonium

1) BRUHNS, Ztsch. physiol. Chem., *14*, 557 (1890). Gewinnung aus Harnsäure: SUNDWICK, Ebenda, *76*, 486 (1912). — 2) Xanthin aus Harnsäure: SUNDWICK, l. c. Aus Guanin: E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *43*, 805 (1910). — 3) KOSSEL, Ber. chem. Ges., *18*, 79. Ztsch. physiol. Chem., *10*, 248 (1886). — 4) BRUHNS, Ztsch. physiol. Chem., *14*, 533 (1890). Ber. chem. Ges., *23*, 225 (1890). BARNETT u. JONES, Journ. biol. Chem., *9*, 93 (1911). Pikrolonat: LEVENE, Biochem. Ztsch., *4*, 320 (1907). — 5) J. A. MANDEL u. DUNHAM, Journ. biol. Chem., *11*, 85 (1912). Puringlucoside: E. FISCHER u. HELFERICH, Ber. chem. Ges., *47*, 210 (1914). — 6) B. UNGER, Lieb. Ann., *59*, 58 (1846). — 7) SCHÜTZENBERGER, Ber. chem. Ges., *7*, 192. — 8) KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 422 (1882). SCHINDLER, Ebenda, *13*, 432 (1889). — 9) LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *29*, 2653.

in der Wärme frei gemacht, und man trennt das Guanin durch Digerieren mit warmem Ammoniak ab, in dem es unlöslich ist. Adenin und Hypoxanthin trennt man mittels Natriumpikrat (KOSSEL, SCHINDLER, BRUHNS l. c., SALKOWSKI, SALOMON) (1).

Vom Guanin und Adenin steht es sicher, daß dieselben, wo sie gefunden werden, primäre Produkte der Spaltung sind. Nicht dasselbe gilt von Xanthin und Hypoxanthin, die sekundär aus den beiden erstgenannten Nucleinbasen hervorgehen. Die Formel der Nucleinsäure von STEUDEL sieht die Präexistenz von zwei Puringruppen im Molekül der Nucleinsäure vor. Nach den Diazotierungsversuchen von H. FISCHER (2) könnte die Bindung der Puringruppen in dem Nucleinsäurekomplex entweder an der Stelle 7 oder 8 erfolgen. Mit den Phosphorsäuregruppen, entgegen früherer Annahme (3), stehen die Puringruppen nicht in direkter Verbindung. Für die Genese der Puringruppen sind ihre Beziehungen zu der folgenden Gruppe, den Pyrimidinen, von großer Wichtigkeit (4).

4. Pyrimidinbasen. Die Abkömmlinge des Pyrimidins mit dem Kohlenstoffkern:

$$\begin{array}{ccccc} (1)N & - & (2)C & - & (3)N \\ \vdots & & & & \vdots \\ (6)C & - & (5)C & - & (4)C \end{array}$$

stellen die Verbindung eines Harnstoffrestes mit einer dreigliedrigen Kohlenstoffkette dar, während die Purinbasen an die letztere zwei Harnstoffreste geknüpft haben. Pyrimidin- und Purinbasen stehen, wie die Synthesen der letzteren mehrfach gezeigt haben, in engerem chemischen Zusammenhange. Purinbasen entstehen leicht aus Pyrimidinderivaten und dem im Histidin vorgebildeten Imidazol (5). Die Frage, ob die Pyrimidinbasen nicht bei der Hydrolyse sekundär aus Purinderivaten entstehen, ist viel erörtert worden, doch ist es sicher, daß es sich um primär aus den Nucleinsäuren abgespaltene Produkte handelt (6). Bezüglich des biologischen Zusammenhanges ist zu bedenken, daß STEUDEL (7) gezeigt hat, daß sich Pyrimidinderivate aus Ureido-Aminosäuren bilden können.

Man kennt drei Pyrimidinbasen als Spaltungsprodukte des Nucleins: das Uracil oder 2,6-Dioxypyrimidin, das Thymin oder 5-Methyl-2,6-Dioxypyrimidin und das Cytosin oder 6-Amino-2-Oxypyrimidin.

Nachdem GORUP-BESANEZ (8) aus Thymusdrüse eine Base „Thymin" angegeben hatte, stellten 1894 KOSSEL und NEUMANN aus der Thymusnucleinsäure und aus Rindermilz ihr Thymin rein dar. Auch SCHMIEDEBERGS „Nucleosin" (9) war mit Thymin identisch. Das krystallisierte Thymin entspricht nach der Molekulargewichtsbestimmung der Formel $C_5H_6N_2O_2$. Die Vermutung von KOSSEL und JONES (10), daß es sich um ein Pyrimidin-

---

1) SALKOWSKI, Virch. Arch., *50*, 193; SALOMON, Ber. chem. Ges., *16*, 195 (1883). NEUBAUER, Ztsch. analyt. Chem., *7*, 398; LEVENE u. MANDEL, Biochem. Ztsch., *10*, 215 (1908). H. STEUDEL, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 570 (1910). Bestimmung d. Purinbasen in Nucleinsäuren: FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *102*, 244 (1918). — 2) H. FISCHER, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 69 (1909). — 3) R. BURIAN, Ebenda, *42*, 297 (1904). Ber. chem. Ges., *37*, 708 (1904). — 4) Bildung von Purinen aus Harnstoffpyrimidinen: TR. B. JOHNSON u. E. MC. COLLUM, Amer. Chem. Journ., *36*, 149 (1906). C. O. JOHNS, Ebenda, *41*, 58 (1909). — 5) JOHNSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 337 (1914). — 6) H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *53*, 508 (1907). R. BURIAN, Ebenda, *51*, 438 (1907). THO. B. OSBORNE u. F. W. HEYL, Amer. Journ. Physiol., *21*, 157 (1908). — 7) STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 136 (1903). Synthese von Pyrimidinen aus Harnstoff und Nitromalonaldehyd: W. J. HALE u. H. C. BRILL, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 82 (1912). TRAUBES Pyrimidinsynthese: Ber. chem. Ges., *41*, 532 (1908). Auch T. B. JOHNSON u. CHERNOFF, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 585 (1913); ebenda, *36*, 345 (1914). — 8) E. VON GORUP, BESANEZ, Lieb. Ann., *89*, 114 (1854). — 9) SCHMIEDEBERG, Arch. exp. Pathol., *37*, 100. — 10) KOSSEL u. JONES, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 20 (1899). GULEWITSCH, Ebenda, *27*, 292 (1899).

derivat handele, wurde durch STEUDEL (1) und schließlich durch die Synthese des Thymins durch F. FISCHER und ROEDER (2) bestätigt. Thymin hat die Konstitution:

$$\begin{array}{l} NH \cdot CO \cdot NH \\ \dot{C}O \cdot C(CH_3) = \dot{C}H \end{array}$$

In den tierischen Nucleinsäurepräparaten ist Thymin stets gefunden worden, doch fehlt es den beiden aus dem Pflanzenreiche stammenden Nucleinsäuren, Myco- und Triticonucleinsäure. Beim Erwärmen freier Nucleinsäure auf dem Wasserbade entsteht, wie KOSSEL fand, die Thyminsäure, die nach ihren Zerfallsprodukten Thymin und Cytosin durch den Austritt von Guanin und Adenin aus Nucleinsäure hervorgehen dürfte (3).

Das Cytosin wurde 1894 durch KOSSEL und NEUMANN bei der Spaltung der Thymusnucleinsäure durch Schwefelsäure zuerst aufgefunden. KOSSEL und STEUDEL (4) erhielten dieselbe Base aus Stör-Testikeln und stellten die Formel $C_4H_5N_3O$ fest. Da Cytosin mit salpetriger Säure Uracil liefert, muß es sich um ein Aminooxypyrimidin handeln. Die Bildung von Biuret bei der Permanganateinwirkung legt seine Konstitution als 2-Oxy-6-Aminopyrimidin fest:

$$\begin{array}{l} \quad\;\; C{-}CH{-}NH \\ NH_2 \cdot \dot{N}{-}CO{=}\dot{C}H \end{array}.$$

Das Cytosin wurde auch synthetisch dargestellt (5). Cytosin ist in der Myconucleinsäure (6) sowie in Triticonucleinsäure (7) nachgewiesen, und scheint in keiner der bisher dargestellten Nucleinsäuren zu fehlen (8).

Die dritte Base, das Uracil, welches zuerst durch ASCOLI (9) aus dem Hefenuclein dargestellt worden ist, wurde durch FISCHER und ROEDER (10) synthetisch gewonnen, und seine Konstitution als 2,6-Dioxypyrimidin bestimmt. Uracil:

$$\begin{array}{l} NH{-}CO{-}NH \\ \dot{C}O{-}CH{=}\dot{C}H \end{array}.$$

Man gewinnt es regelmäßig bei der Hydrolyse tierischer und pflanzlicher Nucleinsäure (11); es scheint zweifelhaft, ob es immer primär vorgebildet ist; es kann aus primär abgespaltenem Cytosin entstehen.

Cytosin und Uracil (nicht aber Thymin) sind durch ihre intensive Rotfärbung beim Erwärmen mit Chlorwasser und etwas Ammoniak charakterisiert: WEIDELS Reaktion, ähnlich wie viele Purinbasen nach Eindunsten mit Salpetersäure und Befeuchten mit Ammoniak die purpurne Murexidprobe zeigen (12). In Bromwasser gelöst geben Uracil und Cytosin, mit Baryumhydroxyd in Überschuß versetzt, einen purpurroten Niederschlag (13). Cytosin und Uracil geben ferner sowie Xanthin und Guanin nach dem Eindampfen ihrer Lösung mit Salpetersäure einen gelben Rückstand, der sich mit Alkalilauge erwärmt purpurrot färbt („Xanthinprobe"). Die Diazobenzolsulforeaktion geben alle Pyrimidinbasen mit Ausnahme

---

1) STEUDEL u. KOSSEL, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 303 (1899). STEUDEL, Ebenda, *30*, 539 (1900). Chem. Zentr. (1901), I, 443. — 2) E. FISCHER u. G. ROEDER, Berl. Akad. (1901), *12*, 268. O. GERNGROSS, Ber. chem. Ges., *38*, 3408 (1905). — 3) Vgl. H. STEUDEL u. P. BRIGL, Ztsch. physiol. Chem., *70*, 398 (1911); FEULGEN, Ebenda, *101*, 296 (1918); *102*, 262 (1918). — 4) KOSSEL u. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 178 u. 377 (1902); *38*, 49 (1903). — 5) WHEELER u. JOHNSON, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 1286. — 6) KOSSEL u. STEUDEL, l. c. LEVENE, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 4 (1903). Amer. Journ. of Physiol., *9*, 17 (1904). — 7) WHEELER u. JOHNSON, Chem. Zentr. (1903), I, 1311. — 8) Vgl. J. A. MANDEL u. LEVENE, Journ. of biol. Chem., *1*, 425 (1906); Biochem. Ztsch., *9*, 233 (1908). STEUDEL, Pharm. Post, *42*, 542 (1909). — 9) A. ASCOLI, Ztsch. physiol. Chem., *31*, 161 (1900). — 10) E. FISCHER u. G. ROEDER, Ber. chem. Ges., *34*, 3751 (1901). — 11) KOSSEL u. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 245 (1902). — 12) Murexidprobe: R. MÖHLAU u. LITTER, Journ. prakt. Chem. (2), *73*, 449 (1906). HARTLEY, Proc. Chem. Soc., *21*, 166 (1905). — 13) H. L. WHEELER u. T. B. JOHNSON, Journ. biol. Chem., *3*, 183 (1907).

der an Stelle 3 substituierten Derivate (**1**). Zur Darstellung des bisher in Pflanzennucleinen vermißten Thymins und dessen Abtrennung von Uracil sei auf die Angaben von KOSSEL und JONES und von JOHNSON verwiesen (**2**). Bei der Isolierung von Uracil wurde dessen Fällbarkeit mit Phosphorwolframsäure benutzt und nach Zerlegen des Niederschlages durch Baryt das Uracil als Silberverbindung gefällt (OSBORNE und HARRIS l. c.). Zur Darstellung von Cytosin hat KUTSCHER (**3**) methodische Angaben geliefert. Schließlich sei auf die interessanten umfassenden Arbeiten von WHEELER und JOHNSON (**4**) zur Synthese verschiedener Pyrimidinderivate hingewiesen.

Die partielle Hydrolyse der Nucleinsäuren hat in neuerer Zeit einige Erfolge erzielt, so daß es möglich ist, sich ungefähr eine Vorstellung über den Aufbau eines Nucleinsäuremoleküls zu machen. Die älteren Arbeiten lieferten noch keine bestimmten Anhaltspunkte. NEUMANNS (**5**) „Nucleinsäure b", ein leichter lösliches Nucleinsäurepräparat, dürfte bereits ein Hydratationsprodukt sein. Man erhielt sie durch längeres Kochen der Säure a mit Alkali. Länger fortgesetztes Kochen führte zu der in kaltem Wasser leicht löslichen Nucleothyminsäure, die in saurer Lösung Xanthinbasen und die phosphorhaltige Thyminsäure abspaltet. Das Barytsalz der letzteren soll der Formel $C_{16}H_{23}N_3O_{12}P_2Ba$ entsprechen. Auch die Nucleotinphosphorsäure von SCHMIEDEBERG (**6**) war ein neben Adenin und Guanin entstehendes intermediäres Hydratationsprodukt. KOSSEL (**7**) erhielt aus Hefenucleinsäure bei der Alkalieinwirkung die Plasminsäure, die bis 27% Phosphor und maskiertes Eisen enthielt, und bei ihrer Spaltung Xanthinbasen lieferte. Als Formel der Plasminsäure wurde $C_{15}H_{28}N_6P_6O_{30}$ angegeben.

STEUDEL (**8**) hat zuerst auf Grund seiner Oxydationsversuche an Nucleinsäure die Meinung ausgesprochen, daß die Phosphorsäure mit Kohlenhydratgruppen ähnlich im Nuclein verbunden sei, wie sie in der Glycerinphosphorsäure mit Glycerin verestert ist. Dies wurde dadurch bestätigt, daß es LEVENE (**9**) gelang, aus der Inosinsäure die d-Ribose-Phosphorsäure zu gewinnen. Andererseits ist die Sachlage der Beurteilung dadurch vereinfacht worden, daß von allen Pyrimidin- und Purinbasen, die bei der Hydrolyse gefunden werden, als primäre Gruppen nur wenige in Betracht kommen: für die tierische Nucleinsäure: Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin, für die pflanzlichen Nucleinsäuren: Guanin, Adenin, Uracil und Cytosin. LEVENE (**10**) konnte zeigen, daß man bei vorsichtiger Aufspaltung

---

1) TR. B. JOHNSON u. CLAPP, Journ. Biol. Chem., *5*, 163 (1908). Pikrolonsäureverbindungen: LEVENE, Biochem. Ztsch., *4*, 320 (1907). Benzoylderivate: JOHNSON u. ZAI ZING ZEE, Amer. Chem. Journ., *49*, 287 (1913). — **2**) KOSSEL u. JONES, Ztsch. physiol. Chem., *29*, 20 (1899). TR. B. JOHNSON, Journ. of biol. Chem., *4*, 407 (1908). — **3**) KUTSCHER, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 170 (1903). Ferner: LEVENE, Ebenda, p. 80; *39*, 133 (1903). — **4**) H. L. WHEELER u. JOHNS, Amer. Chem. Journ., *38*, 594 u. 602 (1907). WHEELER u. LIDDLE, Journ. Amer. Soc. Chem., *30*, 1152 (1908). TR. B. JOHNSON u. S. H. CLAPP, Journ. biol. Chem., *5*, 49 (1908). JOHNS, Amer. Chem. Journ., *40*, 348 (1908). TR. B. JOHNSON u. DERBY, Ebenda, p. 444 (1908). JOHNSON u. JONES, Ebenda, p. 538. JOHNSON u. MENGE, Journ. biol. Chem., *2*, 105 (1906). JOHNSON u. GEO. C. BAILEY, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1007 (1913). Synthese von Uramilen: JOHNSON u. SHEPARD, Ebenda, p. 994. Zusammenfassung: C. BRAHM u. J. SCHMID, Biochem. Handlexik., *4*, 1131 (1911). — **5**) NEUMANN, Arch. Physiol. (1898), p. 374 (1899), Suppl., p. 552. KOSSEL-NEUMANN, Ber. chem. Ges., *26*, 2753 (1893). Arch. Physiol. (1894), p. 194. Ztsch. physiol. Chem., *22*, 74 (1896). KOSTYTSCHEW, Ebenda, *39*, 545 (1903). FEULGEN, Ebenda, *91*, 165 (1914). — **6**) SCHMIEDEBERG, Arch. exper. Pathol., *43*, 57 (1899). C. L. ALSBERG, Ebenda, *41*, 239 (1904). — **7**) KOSSEL, Arch. Physiol. (1893), p. 160. ASCOLI, Ztsch. physiol. Chem., *28*, 426 (1899). Zentr. Physiol. (1900), p. 486. — **8**) H. STEUDEL, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 429 (1906). — **9**) LEVENE u. JACOBS, Ber. chem. Ges., *42*, 335 u. 1198 (1909); *44*, 746 (1911). — **10**) LEVENE, l. c. u. Abderhaldens Handb.

der Nucleinsäuren mit Alkali verschiedene dem Guanosin oder Vernin entsprechende Verbindungen von Purin- und Pyrimidinbasen mit Kohlenhydratgruppen krystallisiert, darstellen kann. Diese Klasse von Verbindungen bezeichnet er als Nucleoside. Aus Hefenucleinsäure konnten alle daselbst vorkommenden Nucleosingruppen: Guanosin oder Vernin, Adenosin, Uridin und Cytidin erhalten werden. Triticonucleinsäure ergab bisher Guanosin, Adenosin und Cytidin. Aus der tierischen Nucleinsäure sind die Nucleoside noch nicht isoliert worden. STEUDEL faßt aber auch die letztere „als Tetrametaphosphorsäure auf, die an jedem P-Atom eine Hexosengruppe enthält, welche wieder je ein Molekül Guanin, Adenin, Thymin und Cytosin gebunden hat". In der frei vorkommenden Guanylsäure und Inosinsäure wäre eine sich an die Nucleoside anschließende nächste Stufe, die zu den Nucleinsäuren führt, zu erblicken. LEVENE hat Stoffe, welche eine diesen Verbindungen entsprechende Struktur aus Phosphorsäureresten, Kohlenhydratgruppen nnd Purin- und Pyrimidinbasen bestehend aufweisen, als Nucleotide zusammengefaßt. Die erwähnten Säuren wären Mononucleotide, während man sich den Aufbau der natürlichen Nucleinsäuren als einen solchen denken kann, welcher Polynucleotiden entspricht. Aus Hefenucleinsäure sind sämtliche Mononucleotide: Guanylsäure, Uridinphosphorsäure, Cytidinphosphorsäure und Adenosinphosphorsäure als krystallisierte Brucinsalze dargestellt (1). Wie man sich das Zusammentreten dieser vier Komplexe im Nucleinsäuremolekül denken soll, ist noch nicht ganz klar. Vielleicht liefern die von LEVENE (2) isolierten Cytosin- und Thymin-Hexose-Diphosphorsäuren hierbei eine Stütze, indem sie uns beweisen, daß die Kohlenhydratgruppen mit zwei PO_4-Gruppen zusammenhängen. JONES und RICHARDS (3) gaben an, daß bei gelinder enzymatischer oder ammoniakalischer Hydrolyse auf Hefenucleinsäure zwei Dinucleotide entstehen; das eine lieferte Cytosin und Guanin, das andere Adenin und Uracil. Letzteres ist hier sicher primär vorgebildet. FEULGEN (4) hat in einer kritischen Studie über die Nucleinsäure-Konstitution vorläufig das nachstehende Schema, welches den bekannten Tatsachen Rechnung trägt, aufgestellt (für das Na-Salz der tierischen Nucleinsäure):

Na — Phosphorsäure — Kohlenhydrat — Guanin
Na, Na > Phosphorsäure — Kohlenhydrat — Cytosin
Na > Phosphorsäure — Kohlenhydrat — Thymin
Na — Phosphorsäure — Kohlenhydrat — Adenin.

Die Enzyme, welche eine Hydrolyse von Nucleinen und Nucleinsäuren bedingen, faßt man als Nucleasen zusammen. Soweit bekannt, handelt es sich um vollständige Aufspaltungen des Nucleinsäurekomplexes. Partielle

---

biochem. Arb.meth., *2*, 605 (1909); *5*, I, 489 (1911). Synthetische Nucleoside: JOHNSON u. CHERNOFF, Journ. biol. Chem., *14*, 307 (1913).

1) P. A. LEVENE, Journ. Biol. Chem., *31*, 591; *33*, 229 u. 425 (1918). THANNHAUSER u. DORFMÜLLER, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 65 (1919); *107*, 157 (1919); *95*, 259 (1915); *100*, 121 (1917); Ber. chem. Ges., *51*, 467 (1918). JONES u. KENNEDY, Journ. Pharm. and Exp. Ther., *12*, 253 (1918); ebenda, *13*, 45 (1919). — 2) LEVENE, Journ. Biol. Chem., *12*, 417. — 3) W. JONES u. RICHARDS, Journ. biol. Chem., *17*, 71 (1914); *20*, 25 (1915); *25*, 93; *29*, 111 (1917). JONES, Nucleic Acid their chem. propert. etc., London 1914. BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., B, *90*, 39 (1917) will Dinucleotide aus Torf als bacterielle Nucleinspaltungsprodukte isoliert haben. — 4) R. FEULGEN, Ztsch. physiol. Chem., *101*, 288 (1918).

fermentative Nucleinspaltungen sind bisher nicht bekannt. Zuerst sind Nucleasewirkungen von der Autolyse (Selbstgärung) der Hefe bekannt geworden, in welcher Xanthinbasen und freie Phosphorsäure auftreten. Die Ansicht, daß es sich um Wirkungen von Trypsin handele, hat SACHS (**1**) widerlegt. Die Nuclease wird vielmehr von Trypsin selbst zerstört. Die Nuclease aus Pankreassaft hat hierauf ABDERHALDEN (**2**) untersucht; LEVENE und LA FORGE (**3**) haben für die Darmnuclease sichergestellt, daß dieselbe auch Nucleoside spaltet. Von pflanzlichen Nucleasen sind besonders jene der Kryptogamen besser bekannt. KIKKOJI (**4**) untersuchte das Nucleinsäure spaltende Ferment des Pilzes Cortinellus edodes, und stellte die Abspaltung freier Purinbasen und freier H_3PO_4 fest. TSUJI (**5**) fand bei der Untersuchung desselben Pilzes, daß als Zwischenprodukte Guanosin, vielleicht auch Adenosin, auftreten, und er wirft die Frage auf, ob hierbei nicht zwei Fermente tätig sind, eines, welches die Nucleinsäure verflüssigt, ein anderes, welches die totale Spaltung vollzieht. Auch P. DE LA BLANCHARDIÈRE (**6**) gab an, daß Lösung und Spaltung der Nucleinsäure nicht immer parallel laufen. TEODORESCO (**7**) untersuchte die Nuclease von Pteridium-Blättern und jene aus der Flechte Evernia Prunastri, hauptsächlich im Hinblick auf das Temperaturoptimum und -maximum. Ersteres ergab sich bei 34°, das Maximum bei 90°. Daß auch im Handelsemulsin Nuclease vorhanden ist, scheint aus den Angaben von TSCHERNORUTZKY hervorzugehen, wonach durch dieses Enzympräparat hefenucleinsaures Natron unter Abspaltung von H_3PO_4 angegriffen wird (**8**). Die Nuclease aus Samen von Glycine hispida ist nach den Untersuchungen von DE LA BLANCHARDIÈRE in Glycerin löslich, wenig adsorbierbar und verflüssigt thymonucleinsaures Natron. Wie andere Fermente, so ist nach TEODORESCO (**9**) auch die Nuclease gegen höhere Temperaturen in trockenem Zustande sehr widerstandsfähig. Die untersuchten Enzympräparate wurden erst bei Temperaturen um 150° herum unwirksam. Natriumjodid und -bromid hemmten die Wirkung von Nucleasen (**10**).

An die Wirkung der Nuclease, durch die die primären Nucleosidbasen abgespalten werden, schließt sich die Wirkung anderer Fermente des Nucleinstoffwechsels an, welche nur auf Pyrimidin- und Purinbasen einwirken. Sie desamidieren Guanin, Adenin und Cytosin, und oxydieren dieselben gleichzeitig zu Xanthin bezw. Hypoxanthin und Uracil. Diese Fermente werden als Xanthinoxydasen zusammengefaßt (**11**). Näheres soll hierüber an anderer Stelle dargelegt werden.

Es wurde behauptet, daß die Abspaltung des Nucleinphosphors im intermediären Stoffwechsel der Pflanze eine gewisse Rolle spiele. Doch hat sich in den Untersuchungen von ZALESKI (**12**) gezeigt, daß während des

1) FR. SACHS, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 337 (1905). — **2**) ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ebenda, *47*, 452 (1906). — **3**) LEVENE u. F. B. LA FORGE, Journ. biol. Chem., *13*, 507 (1913). — **4**) T. KIKOJI, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 201 (1907). — **5**) K. TSUJI, Ebenda, *87*, 378 (1913). — **6**) P. DE LA BLANCHARDIÈRE, Ebenda, p. 291 (1913). — **7**) E. C. TEODORESCO, Compt. rend., *155*, 554 (1912). — **8**) H. TSCHERNORUTZKY, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 298 (1912). Über Nuclease im tierischen Organismus noch: M. TSCHERNORUTZKI, Biochem. Ztsch., *44*, 353 (1912). — **9**) E. C. TEODORESCO, Compt. rend., *156*, 1081 (1913). — **10**) A. CHISTONI, Arch. di Fisiol., *11*, 119 (1913); A. JAPPELLI, Arch. int. Pharm., *23*, 63 (1914). O. BERGEIM, Proc. Soc. Exp. Biol., *12*, 109; Nephelometr. Prüfung auf Nucleasen: KOBER u. GRAVES, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 1304 (1914). — **11**) Vgl. E. SCHITTENHELM, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 354 (1905); W. JONES u. C. R. AUSTRIAN, Ebenda, *48*, 110 (1906). WINTERNITZ u. JONES, Ebenda, *60*, 180 (1909); JONES, Ebenda, *65*, 383 (1910); SCHITTENHELM u. K. WIENER, Ebenda, *77*, 77 (1912). SCHITTENHELM, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *3*, 420 (1910). — **12**) W. ZALESKI, Ber. botan. Ges., *27*, 202 (1909).

Wachstums von Stengelspitzen kein nennenswerter Abbau von Nucleinsäuren stattfinden kann. Es wird sich vielmehr um Zellbaustoffe im engsten Sinne handeln.

III. Die Plasmaproteide.

Bereits ältere Beobachtungen von HARTIG und SACHS zeigten, daß das Cytoplasma nicht direkt die gewöhnlichen Eiweißreaktionen zu geben pflegt. Es läßt in der Tat manches vermuten, daß hochzusammengesetzte Proteine nicht näher bekannter Natur, welche die Reaktionen genuiner Eiweißkörper nicht sämtlich zeigen, beim Aufbau des Cytoplasmas eine wichtige Rolle spielen. Ein solches Proteid meinten REINKE und RODEWALD (1) aus dem Preßrückstande der Plasmodien des Schleimpilzes Fuligo varians gewonnen zu haben. Sie beschrieben ihr Präparat, an dessen Einheitlichkeit und Reinheit allerdings die stärksten Zweifel geknüpft werden müssen, unter dem Namen Plastin. Das Plastin ist nach REINKES Angaben unlöslich in Wasser, Alkohol, 10% NaCl, 0,2% HCl, auch in verdünnten Alkalien. Erst beim Kochen mit stärkeren Alkalien ging es in Lösung. Als prozentische Zusammensetzung wurde angegeben: 53,49% C, 7,22% H, 11,92% N. Nach späteren Untersuchungen von REINKE und KRAETSCHMAR ist das Plastin auch phosphorhaltig. Nach ZACHARIAS (2) wird Plastin durch konzentrierte HCl gelöst. In Pepsin-Salzsäure quillt es auf, ohne das eigentümlich glänzende Aussehen des Nucleins im mikroskopischen Bilde zu zeigen. O. LOEW (3) hat nachgewiesen, daß das mit Kali gelöste Plastin nach der Ausfällung mit Essigsäure die gewöhnlichen Eiweißreaktionen gibt. Es muß dahingestellt bleiben, ob das Plastin tatsächlich einem besonderen Typus der zusammengesetzten Proteine entspricht. Um Nucleoproteide dürfte es sich nicht handeln, obwohl deren Gegenwart im Cytoplasma durchaus nicht unwahrscheinlich ist. Vom „Cytoglobin" von DEMME (4) darf man aber wohl ohne weiteres behaupten, daß es sich darin um Leukocyten-Nucleoproteide gehandelt haben dürfte.

In der Tierphysiologie hat man die Organplasma-Eiweißkörper auch als Stromine bezeichnet. Einige analytische Daten hierüber findet man in einer Arbeit von KRAWTSCHENKO (5).

Die Untersuchungen von POHL (6) haben durch die Einführung einer besseren Untersuchungstechnik, vor allem einer genügenden Konservierung durch rasches Trocknen bei niederer Temperatur zu verläßlicheren Präparaten von Organeiweiß geführt. Unter Benutzung solcher Methoden konnte H. WIENER (7) aus Tierleber mindestens drei verschiedene Plasmaproteine sondern, von denen eines durch Formol fällbar war. Es scheint sich in diesen Fraktionen um verschiedene Zwischenstufen zu handeln, die bei der Verwandlung von Organeiweiß in Nahrungseiweiß im Hungerzustand auftreten.

---

1) REINKE u. RODEWALD, Uuntersuch. über das Protoplasma, Heft 2 (1881). REINKE u. KRÄTZSCHMAR, Ebenda, Heft 3 (1883). Neuere Angaben über „Plastin" aus tierischem Gewebe: V. RUZICKA, Arch. Zellforsch., *1*, 587 (1908). Zur Plastinfrage besonders auch W. BIEDERMANN, Flora, *111*—*112* (Stahlfestschrift) (1918). — 2) E. ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1887), p. 281. — 3) O. LOEW, Botan. Ztg. (1884), p. 113. — 4) W. DEMME, Diss. Dorpat 1890. — 5) W. S. KRAWTSCHENKO, Diss. Petersburg (1904). Biochem. Zentr., *3*, 223 (1904). — 6) J. POHL, Hofmeist. Beitr., *7*, 381 (1905). Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *5*, I, 659 (1911). — 7) H. WIENER, Biochem. Ztsch., *56*, 122 (1913).

Abschnitt 2: Die Proteide im Stoffwechsel der niederen Pflanzen.

Dreiunddreißigstes Kapitel: Die Proteide der Bacterien und Pilze.

§ 1.

Die Eiweißstoffe der Bacterien.

NENCKI und SCHAFFER (1) waren die ersten Forscher, welche versuchten, Bacterieneiweiß der chemischen Untersuchung zuzuführen, doch besitzen ihre Untersuchungen über das „Mycoprotein" keine aktuelle Bedeutung mehr, da mit Gemischen von Fäulnisbacterien, ohne gehörige Sonderung von den Substrateiweißstoffen, und unter Anwendung von Laugen und Säuren als Extraktionsmitteln gearbeitet wurde. Die Angabe NENCKIS, daß der Proteingehalt von Bacterienmassen ein ungewöhnlich hoher ist, hat sich aber auch in späteren Arbeiten, wie jenen von CRAMER und BRIEGER (2), wo auf sorgfältige Abhebung der Bacterienschicht vom Substrate geachtet wurde, im allgemeinen bestätigt. Man fand in:

	Protein in der Trockensubstanz	
Bacillus erythematis nodosi	64,2 %	BOVET (3)
Bacillus Diphtheriae	63,4 %	DZIERZGOWSKI (4)
Choleravibrionen	65,0 %	CRAMER (5)
PFEIFFERS Kapselbacillus auf 5% Pepton	70,0 %	CRAMER (6)
Wasserbacillus	79,6 %	CRAMER (6)
Pneumoniebacillus	79,8 %	CRAMER (6)
Rhinosclerombacillus	76,2 %	CRAMER (6)
Wasserbacillus	63,5 %	NISHIMURA (7)
Rotzbacillus	47,84 %	SCHWEINITZ und DORSET (8)
Tuberkelbacillus	55,87 %	SCHWEINITZ und DORSET (8)
Fäulnisbacterienmischung	84,2 %	NENCKI l. c.

Besonders Bac. tuberculosis wurde mit ähnlichem Ergebnis in neuerer Zeit mehrfach untersucht. BAUDRAN (9) fand 50—56% Eiweiß neben 3—4% Nuclein. Bei Essigbacterien wurde infolge der reichlich gebildeten Membransubstanz der Eiweißgehalt relativ sehr klein gefunden, nur bis etwa 14% nach ROMEGIALLI sowie ALILAIRE (10). Den Angaben von OMELIANSKI (11) ist zu entnehmen, daß ähnliches auch für Azotobacter chroococcum gilt, in dessen Massenkulturen das meiste auf Kohlenhydrate entfällt, nur 13% auf Eiweiß.

1) M. NENCKI, Beitr. z. Biolog. d. Spaltpilze (1880). NENCKI u. SCHAFFER, Ber. chem. Ges., *12*, 2386 (1879); Journ. prakt. Chem., *23*, 302 (1881). NENCKI, Ber. chem. Ges., *17*, 2605 (1884). — 2) BRIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *15*, 134 (1891). — 3) V. BOVET, Monatsh. Chem., *9*, 1152 (1888). — 4) DZIERZGOWSKI u. REKOWSKI, Arch. Sci. Biol. (1892), p. 167. — 5) E. CRAMER, Arch. Hyg., *16*, 151 (1892). — 6) CRAMER, Ebenda, *22*, 167 (1895). — 7) T. NISHIMURA, Ebenda, *18*, 318 (1893). — 8) E. DE SCHWEINITZ u. M. DORSET, Journ. Am. Chem. Soc., *17*, 605 (1895). — 9) G. BAUDRAN, Compt. rend., *142*, 657 (1906). Für Diphtheriebacillen: BRADLEY u. NICHOLS, Journ. Biol. Chem., *33*, 525 (1918). — 10) E. ALILAIRE, Compt. rend., *143*, 176 (1906). — 11) W. L. OMELIANSKI u. N. O. SIEBER, physiol. Ztsch. Chem., *88*, 445 (1913).

Der Eiweißgehalt von Bacterien unterliegt anscheinend auch nach der Natur des Nährbodens erheblichen Schwankungen; auf eiweißarmem und zuckerreichem Substrate, sowie auf der eiweißfreien Uschinskyschen Nährlösung ist bei verschiedenen Bacterien bis zu 20% weniger Eiweiß gefunden worden. Energisches Wachstum muß somit nicht notwendig einem höheren Proteingehalte entsprechen.

Eine ganze Reihe von Arbeiten (1) hat nachgewiesen, daß man aus Bacterien Eiweißkörper vom Verhalten genuiner Proteine darstellen kann. Doch ist es noch unbestimmt, inwieweit diese Stoffe den gewöhnlichen Albuminen und Globulinen entsprechen. Liefmann (2) versuchte die Aussalzung mit Magnesiumsulfat auch für Bacterieneiweiß anzuwenden.

Von Interesse sind die mehrfach vorgenommenen Hydrolysen von Bacterieneiweiß. Tamura (3), der das Eiweiß aus menschlichen Tuberkelbacillen, Diphtheriebacillen und Mycobacterium lacticola untersuchte, entwirft ein Bild vom Bacterieneiweiß, das in den Hauptzügen hinsichtlich der darin gefundenen Diamino- und Monaminosäuren mit dem Eiweiß höherer Organismen gut übereinstimmt. Bemerkenswert ist jedoch, daß die Schwefelbleireaktion hier in allen Fällen ausblieb, und Cystin nicht nachzuweisen war. Hingegen fehlten Tryptophan, sowie die aromatischen Gruppen nicht. Während man aus Diphtheriebacillen viel Tyrosin, und wenig Phenylalanin erhielt, lieferten die beiden anderen Arten auffallend viel Phenylalanin. Prolin, Valin, ferner Arginin, Histidin und Lysin, dann Leucin und Isoleucin, wurden wie sonst nachgewiesen. Adenin als Nucleinspaltungsprodukt wurde festgestellt, Guanin fehlte. Der Proteinstoff aus einem von Tamura (4) untersuchten Wasserbacillus verhielt sich ganz analog; die Cystingruppe scheint auch hier zu fehlen. Auch Omeliansky suchte bei Azotobacter vergeblich nach Cystin. Diese Mikrobe erwies sich als reich an Arginin und besonders an Lysin. Malm (5) gibt vom Tuberkelbacillus einen albumosenartigen Eiweißstoff an. Bac. mesentericus ist nach Horowitz-Vlassowa (6) reich an Glutaminsäure, Bac. coli lieferte viel Diaminosäuren. Das „Toxomucin“ von Weyl (7) war ein aus Tuberkelbacillen gewonnenes Gemisch von Eiweiß und Nucleoproteiden. Tamura konnte das von Ruppel (8) angegebene Tuberculosamin nicht wieder finden, und auch sonstige Befunde der älteren Literatur bedürfen der Bestätigung.

Glucoproteine oder Mucine dürften bei Bacterien nicht selten vorkommen. Weleminsky (9) hat aus Tuberkelbacillen ein Mucin dargestellt, Leach (10) fand in Bact. coli neben Nucleoproteid reichlich Glucoproteid. Die von Bact. gliscrogenum in menschlichem Harn gebildeten Schleimmassen bestehen nach Malerba (11) aus wirklichem Mucin. Auch sonst noch wären Befunde über Bacterienmucin zu erwähnen (12).

---

1) Brieger, l. c. Hellmich, Arch. exp. Pathol., *26*, 328. Hammerschlag, Zentr. f. Mediz. (1891), Nr. 1. Buchner, Berlin. klin. Woch.schr. (1890), p. 673 u. 1084. K. v. Hoffmann, Wien. klin. Woch.schr. (1894), 712; Chem. Zentr. (1895), I, 347. Nishimura, l. c. — 2) H. Liefmann, Münch. med. Woch.schr., 1913, Heft 26, p. 1417. — 3) S. Tamura, Ztsch. physiol. Chem., *87*, 85 (1913); *89*, 293 (1914). — 4) Tamura, Ebenda, *90*, 286 (1914). — 5) Malm, Zentr. Bakt. (I), *70*, 141 (1913). — Hydrolyse von Tuberkelbacillus: S. M. Wheeler, Journ. biol. Chem., *6*, 509 (1909); N. O. Sieber, Zentr., Bakt. I, *66*, 554 (1912). — 6) A. Horowitz-Vlassowa, Arch. Sci. Biol., *15*, 40 u. 428 (1911). — 7) Th. Weyl, Deutsche med. Woch.schr. (1891), p. 256. — 8) W. Ruppel, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 218 (1898). — 9) F. Weleminsky, Berlin. klin. Woch.schr., *49*, 1320 (1912). — 10) M. F. Leach, Journ. biol. Chem., *1*, 463 (1906). — 11) P. Malerba, Ztsch. physiol. Chem., *15*, 539. — 12) Lepierre, Compt. rend., *126*, 761 (1898). L. F. Rettger, Biochem. Zentr., *2*, Ref. Nr. 173 (1903); L. Heim, Münch. med. Woch.schr. (1904), p. 426 für Bac. anthracis.

An der bereits von früheren Forschern (**1**) vermuteten Existenz von Nucleoprotein in Bacterien läßt sich angesichts der allenthalben aufgefundenen Purinbasen unter den hydrolytischen Produkten nicht mehr zweifeln. Darauf hat NISHIMURA zuerst hingewiesen. Typische Nucleinpräparate wurden später durch RUPPEL (**2**) aus Bac. tetani und tuberculosis dargestellt, sowie besonders durch GALEOTTI (**3**) aus Bac. ranicidus, cholerae asiaticae und anderen Mikroben. Mit dem Nucleoproteid der Milzbrandbacillen beschäftigte sich TIBERTI (**4**); ARONSON stellte aus Diphtheriebacillen eine Nucleinsäure her (**5**). Da aus Bacteriennuclein dieselben Spaltungsprodukte gewonnen wurden, wie aus Nucleinsäuren anderer Pflanzen: Adenin, Guanin, Xanthin, durch LEVENE (**6**) die Pyrimidinbasen Cytosin und Uracil, durch BENDIX (**7**) Pentose, und da auch der Phosphorgehalt der von RUPPEL dargestellten „Tuberculinsäure" mit den gewöhnlichen Befunden an Nucleinsäuren übereinstimmt, so darf man annehmen, daß sich die Bacteriennucleine nicht wesentlich von den Nucleinen anderer Pflanzen unterscheiden. Jedoch bedarf die Angabe von LEVENE, daß bei Tuberculonucleinsäure unter den Spaltungsprodukten Thymin vorkommt, einer Bestätigung, da Pilznucleinsäure nur Cytosin, und das sekundär daraus entstehende Uracil liefert. Auch RUPPEL gab eine „Tuberculothyminsäure" als Spaltungsprodukt an. Die von SCHWEINITZ (**8**) beschriebene „Tuberculinsäure" ist jedenfalls von RUPPELS Präparat verschieden und bedarf noch näherer Aufklärung.

Als Stoffe, welche wahrscheinlich aus irgendwelchen Verbindungen von Nucleinsäuren bestehen, faßt A. MEYER (**9**) Inhaltskörperchen auf, welche zuerst in Spirillum volutans beobachtet wurden. Die „Volutanskugeln" kommen übrigens auch in anderen Bacterien vor. Sie färben sich stark mit Methylenblau oder Carbolfuchsin, ohne sich auf Zusatz von 1% Schwefelsäure, wie die übrigen Partien des Zellinhaltes, rasch zu entfärben. MEYER hält diese Inhaltsstoffe für Reservesubstanzen und hat die Benennung „Volutin" für die hypothetische Substanz dieser Körner vorgeschlagen. Auch neuere Forscher, wie GUILLIERMOND (**10**) neigen zur Ansicht, daß das Volutin nicht wesentlich von Nuclein verschieden sei. Doch beweisen die mikrochemischen Proben hierfür noch nichts, und es stimmt diese Identifizierung schlecht zur Vorstellung, daß es sich um Reservestoffe handelt (**11**).

Daß Mikroben, auf stickstoffreiem Substrate gezüchtet, keinen Stickstoff enthalten, wie einst FERMI (**12**) zu behaupten sich veranlaßt sah, dürfte auf Übersehen sehr geringer N-Mengen beruhen.

---

1) VANDEVELDE, Ztsch. physiol. Chem., *8*, 367 (1884). DREYFUSS, Ebenda, *18*, 358; GOTTSTEIN, Virch. Arch., *133*, 296. — **2**) G. RUPPEL, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 218 (1898). Die Proteine (1900), p. 86. — **3**) G. GALEOTTI, Ztsch. physiol. Chem., *25*, 48 (1898); Zentr. Bakt., I, *67* (1912). A. LUSTIG u. G. GALEOTTI, Lo Sperimentale, *63*, 777 (1910). — **4**) N. TIBERTI, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 777. — **5**) H. ARONSON, Arch. Kinderheilkunde, *30*, 23 (1900). — **6**) P. A. LEVENE, Journ. Med. Res., *12*, 251 (1904). — **7**) E. BENDIX, Deutsche med. Woch.schr., *27*, 18 (1901). Chem. Zentr. (1901), I, 406. P. KRAWKOW, Kochs Jahresber., *12*, 75 (1901). — **8**) SCHWEINITZ u. DORSET, Chem. Zentr. (1897), II, 1188. — **9**) A. MEYER, Praktikum der botan. Bakterienkunde (1903), p. 80. Botan. Ztg. (1904), I, 113; GRIMME, Methoden der Bakterienfärbung. Diss. Marburg 1902. — **10**) A. GUILLIERMOND, Arch. Protistenkunde, *19*, 289 (1910). J. SUMBAL, Ztsch. allg. Physiol., *15*, 458 (1913). — **11**) Vgl. hierzu RUŽIČKA, Arch. Entwickl.mech., *42*, 517 (1916). — **12**) CL. FERMI, Zentr. Bakt., II, *2*, 505 (1896).

Anhang: Die Proteide der Myxomyceten.

Die Analyse des Plasmodiums von Fuligo septica durch REINKE und RODEWALD (1) hat ergeben, daß darin verschiedene Eiweißkörper vorkommen. Diesen Autoren zufolge bildet das von Pepsin-Salzsäure nicht hydrolysierbare Plastin die Hauptmasse mit 27,4%. Andere Proteide wurden als Vitellin (5%) und Myosin (1%), sodann als Peptone und „Peptonoid" (4%) unterschieden. Diese Stoffe bedürfen aber einer erneuten Untersuchung nach modernen Methoden. Wichtig ist der Nachweis REINKES, daß aus dem Myxomycetenplasmodium Nucleinbasen erhalten werden, und demnach auch hier Nucleoproteide zugegen sind.

§ 2.

Die Eiweißstoffe der Saccharomyceten.

Die Proteinstoffe der Hefe versuchten bereits SCHLOSSBERGER, MULDER und SCHÜTZENBERGER zu gewinnen (2), doch hatten diese Forscher ebenso wie später NENCKI (3), der sein „Mycoprotein" auch von Hefe angab, nur zersetzte Substanzen in Händen. Schon der hohe Gehalt der Hefe an Gesamtstickstoff, der sich zwischen 9—12% der Trockensubstanz bewegt, zeigt an, daß der Proteingehalt der Hefe ein hoher sein wird. STUTZER (4) fand 8,65% Gesamt-N, davon waren 10,11% Amid- und Pepton-N, 63,8% Eiweiß-N und 26,09% Nuclein-N. Nach MATTHEWS (5) sind etwa 90% des Hefe-N als Eiweiß- und Nuclein-N vorhanden. Der N-Gehalt der Hefe ist übrigens nicht in allen Lebensstadien gleich, und WIJSMAN (6) fand ihn während der Gärung sehr stark erhöht und dann abnehmend. Jahrelang aufbewahrte Hefe zeigt hochgradig verringerten Stickstoffgehalt (7). HENNEBERG (8) veranschlagt den Eiweißgehalt der Hefe mit 33—65%. RUBNER (9) fand in Trockenhefe 9,79% N entsprechend 61,79% Protein. Analysen von D. MEYER (10) von Brauereihefe und Mineralhefe geben 38,55 resp. 37,21% Rein-Eiweiß an. Eiweißreiche Zellen sind stark lichtbrechend, undurchsichtig, mit mehreren kleinen Vacuolen; eiweißarme Zellen sind transparent, mit großer Vacuole, und zeigen Körnchen in Molekularbewegung. DREYER (11) berechnet das Hefeeiweiß nur mit 12% der Trockensubstanz, und sieht hiervon 40% als Globulin und 60% als Albumin an. Ältere Angaben von NÄGELI (12) teilen der untergärigen Hefe 45% Albumin und 2% Pepton zu. Die rasch eintretende Autolyse erschwert die Gewinnung der nativen Hefeproteide sehr. Geeignet zur Darstellung derselben ist vor allem die Preßsaftmethode nach BUCHNER mit möglichst rasch erfolgender Aufarbeitung. WROBLEWSKI (13) wies im Hefepreßsafte Globulin, Albumin, Nucleoalbumin, Proteosen und mucinartige Stoffe nach. Über

---

1) J. REINKE u. RODEWALD, Untersuch. botan. Labor. Göttingen (1881), Heft 2. — 2) SCHLOSSBERGER, Lieb. Ann., *80*; SCHÜTZENBERGER u. DESTREM, Compt. rend., *88*, 383 (1879). A. MAYER, Gär.chemie (1895), p. 111; EULER-LINDNER, Chemie der Hefe (1915), p. 61. — 3) NENCKI, Beitr. z. Biolog. d. Spaltpilze (1880). — 4) STUTZER, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 572 (1882). — 5) MATTHEWS, Kochs Jahresber. (1897), p. 84. — 6) H. P. WIJSMAN, Ebenda (1891), p. 120. Chem. Zentr. (1891), II, 759. — 7) DUCLAUX, Traité Microbiol., *3*, 153 u. 459 (1900). — 8) W. HENNEBERG, Naturforsch.-Vers. 1911, II, *1*, 240. — 9) M. RUBNER, Münch. med. Woch.schr., *63*, 629 (1916). — 10) D. MEYER, Landw. Woch.schr. Prov. Sachs. 1916, Nr. 45. — 11) G. DREYER, Ztsch. ges. Brauwes., *36*, 201 (1913). — 12) C. v. NÄGELI, Sitz.ber. Münch. Ak. (1878), 4. Mai. — 13) A. WROBLEWSKI, Zentr. Physiol. (1898), p. 699.

alle diese Substanzen ist wenig Sicheres bekannt. THOMAS (1) will zwei Hauptproteide der Hefe unterscheiden: das phosphorfreie Cerevisin, welches bei der Analyse viel Lysin liefert, und ein Paranucleoproteid mit 1,75 bis 1,83% Phosphorgehalt. Beide sind sehr tryptophanreich; in der Cerevisinfraktion ist Invertin enthalten. Weniger intakte Proteine erhält man durch Digerieren der Hefe mit Äther oder Formaldehyd, doch wurden aus solchen Digestionsgemischen durch SCHRÖDER (2) und BOKORNY (3) ebenfalls noch Eiweißkörper, welche nach ihrem Verhalten Albumine und Proteosen darstellen, isoliert. Die von NÄGELI und von DUCLAUX erwähnte, in heißem Alkohol lösliche Eiweißsubstanz der Hefe ist wohl gleichfalls proteosenartig. SCHRÖDER hat auch die Abbauprodukte der Hefeproteide näher untersucht, über die in neuerer Zeit durch EHRLICH, H. PRINGSHEIM, THOMAS und MEISENHEIMER ausführlich berichtet worden ist (4). Fast alle als Eiweißspaltungsprodukte bekannten Aminosäuren wurden aufgefunden, auch Tryptophan. Nicht ganz sicher ist der Nachweis von Serin und Cystin. Über die N-Verteilung im Hefeextrakt sind die Angaben von COOK (5) zu vergleichen; beachtenswert wäre der hohe Gehalt an Diamino-N.

Die Hefenucleinsäure, welche BOOS (6) als Myconucleinsäure zu benennen vorschlug, ist besser bekannt. Daß bei der Autodigestion von Hefe Xanthinbasen auftreten, erfuhr schon SCHÜTZENBERGER (7). MIESCHER, sowie HOPPE-SEYLER (8) gelang hierauf die Gewinnung der ersten unreinen Präparate von Nucleinsäure. Der Zusammenhang zwischen der Xanthinbasenbildung und dem Hefenuclein wurde aber erst durch die grundlegenden Arbeiten von KOSSEL klar, der später auch das Adenin, neben dem früher isolierten Xanthin, Hypoxanthin und Guanin als Nucleinspaltungsprodukte erkannte (9). KOSSEL gewann sein Hefenuclein durch Einbringen des ausgewaschenen Hefeschlammes in sehr verdünnte Natronlauge, worauf sofort in verdünnte Salzsäure hineinfiltriert wurde. Der Niederschlag wurde mit HCl, Wasser und Alkohol gewaschen und getrocknet. Durch die Arbeiten verschiedener Forscher (10), durch jene von KOSSEL mit seinen Schülern NEUMANN, ASCOLI, STEUDEL, durch

---

1) P. THOMAS u. S. KOLODZIEJSKA, Compt. rend., *156*, 2024; *157*, 243 (1913); *158*, 1597 (1914). P. THOMAS, Bull. Soc. Chim. Biol., *1*, 67 (1914). — 2) R. SCHRÖDER, Hofmeist. Beitr., *2*, 389 (1902). — 3) TH. BOKORNY, Bot. Zentr., *86*, 326 (1901). — 4) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *8*, 410 (1908). Woch.schr. Brau., *30*, 561 (1913). H. PRINGSHEIM, Ebenda, p. 399. THOMAS, l. c.; J. MEISENHEIMER, Woch.schr. Brau., *32*, 325 (1915); Ztsch. physiol. Chem., *104*, 229 (1919). C. NEUBERG, Woch.schr. Brau., 1915, Nr. 38, p. 317. Hefealbumose: BOKORNY, Allg. Brau.- u. Hopf.-Ztg., *55*, 1653 (1915). — 5) F. C. COOK, Biochem. Bull., *3*, 445 (1914). — 6) W. F. BOOS, Arch. exp. Pathol., *55*, 16 (1906). — 7) SCHÜTZENBERGER, Compt. rend., *78*, 493 (1874). NÄGELI, Lieb. Ann., *193*, 322 (1878). LEHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 563 (1885). — 8) HOPPE-SEYLER, Ebenda, *2*, 427 (1879). — — 9) A. KOSSEL, Ebenda, *3*, 284 (1879). Ber. chem. Ges., *18*, 1928 (1885). Xanthinbasen aus Hefeextrakten: K. MICKO, Ztsch. Unt. Nahr. u. Gen.mittel, *7*, 257 (1904). — 10) LIEBERMANN, Pflüg. Arch., *47*, 155 (1890). A. LASCHÉ, Kochs Jahresber. (1895), p. 49. W. KLINKENBERG, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 566 (1882). Ferner: H. B. SLADE, Chem. Zentr. (1905), II, 141. NISHIMURA, Arch. Hyg., *18*, 318 (1893). Darstellung: R. ALTMANN, Arch. Anat. u. Physiol. (1889), p. 524. KOWALEVSKY, Ztsch. physiol. Chem., *69*, 240 (1910). W. JONES u. RICHARDS, Journ. biol. Chem., *17*, 71 (1914). LEVENE, Biochem. Ztsch., *17*, 120 (1909); *31*, 591; *33*, 229 u. 425 (1918); Ber. chem. Ges., *42*, 2474 u. 2703 (1909); *43*, 3150 (1910); *44*, 1027 (1911); *45*, 608 (1912). CLARKE u. SCHRYVER, Biochem. Journ., *11*, 319 (1917). THANNHAUSER u. DORFMÜLLER, Ztsch. physiol. Chem., *100*, 121 (1917). JONES u. READ, Journ. Biol. Chem., *29*, 111 u. 123 (1917); *31*, 46, 295 u. 337 (1918). Nucleinbestimmung in Hefe: LUBSEN, Pharm. Weekbl., *55*, 1625 (1918). CHAPMAN, Analyst, *43*, 259 (1918).

Levene u. a. ist die Hefenucleinsäure relativ gut erforscht worden, während man über das Nuclein und das native Nucleoproteid nicht viel weiß. Hefenucleinsäurepräparate haben die typischen Eigenschaften von Nucleinsäuren (vgl. p. 109). Leicht löslich in verdünnten Alkalien, beim Ansäuren fällbar; konzentriertere Lösungen von Natriumnucleinat gelatinieren leicht. Die Zusammensetzung wird gegenwärtig mit $C_{38}H_{56}O_{25}N_{15}P_4$ angegeben. Von Spaltungsprodukten sind bekannt außer Phosphorsäure Pentose (d-Ribose), Guanin, Adenin, Cytosin und Uracil. Ferner kennt man daraus als Spaltungsprodukte Guanylsäure, Adenosin-, Cytidin- und Uridinphosphorsäure, die alle noch Kohlenhydratgruppen und PO_4 in Verbindung mit der Base führen, und nur bei milderer Hydrolyse auftreten. Außer diesen vier Mononucleotiden wurden zwei Dinucleotide von Jones und Richards aus Hefenucleinsäure dargestellt; eines soll Cytosin und Guanin, das andere Adenin und Uracil liefern. Im übrigen ist die Konstitution noch unbekannt. Wahrscheinlich muß man sich also Hefenucleinsäure aus vier Mononucleotiden aufgebaut denken, so wie die tierische Nucleinsäure. Fraglich ist, ob alle Kohlenhydratgruppen aus Ribose bestehen, oder auch Hexosederivate darin vorkommen.

Das von den Bacterien erwähnte Volutin ist auch von der Hefezelle bekannt (1). Es handelt sich um tröpfchenartige Inhaltsmassen, die den Charakter von Reservestoffen zu haben scheinen. Ohne Phosphor soll kein Volutin gebildet werden. Mit der Zymase hat es wohl nichts zu tun, da Herwerden gärungsfähige, aber volutinfreie Kulturen beobachtete. Es wird als Nucleinsäure angesehen, und ist unter Abspaltung von Phosphorsäure fermentativ spaltbar (Volutase).

§ 3.
Die Eiweißstoffe der höheren Pilze.

Schon Braconnot wie Vauquelin (2) erwähnen Vorkommen von Eiweiß in Pilzen, und es ist seit den älteren Forschungen eine weit verbreitete, aber nicht zutreffende Meinung, daß sich die Hutpilze durch einen ganz besonderen hohen Eiweißgehalt auszeichnen. Nach den vorliegenden Analysen von Mörner, Siegel, v. Loesecke, Kohlrausch, Margewicz (3) erreicht allerdings der Eiweißgehalt des Hutes der Basidiomyceten häufig genug den Gehalt von Protein in eiweißreichen Samen.

Nach den Zusammenstellungen von König (4) beträgt die mittlere Zusammensetzung des Hutes bei:

	N-Substanz	Kohlenhydrate
Psalliota campestris	43,57 %	40,02 %
Marasmius Oreades	35,56 %	41,82 %
Boletus edulis	41,15 %	42,73 %
Polyporus ovinus	11,96 %	51,01 %

1) A. Meyer, Botan.-Ztg. (1904), I, 113; W. Henneberg, Woch.schr. Brau., *32*, 301 (1915); Zentr. Bakt., II, *45*, 50 (1916). van Herwerden, Versl. Akad. Amsterd., *25*, 1445 (1917). Fol. Microbiol., *5*, (1917). Verhandl. Ak. Amst., *20*, 100 (1917). K. Krömer, Landw. Jahrb., *52*, Erg.bd. I, 104 (1919). — 2) Vauquelin, Ann. Chim. et Phys., *85*, 5 (1814). Braconnot, Ebenda, *87*, 237. — 3) Mörner, Ztsch. physiol. Chem., *10*, 503 (1886). O. Siegel, Diss. Göttingen (1870). A. v. Loesecke, Arch. Pharm. (1876), p. 133. Kohlrausch, Diss. Göttingen (1867). Margewicz, Justs Jahresber. (1885), I, 85. — 4) König, Chem. d. Nahr.- u. Genußmittel. Vgl. auch Petroff, Justs Jahresber. (1890), II, 421. Zega, Chem.-Ztg. (1900), Nr. 27; (1902), p. 10. Pizzi, Justs Jahresber. (1889), I, 316.

	N-Substanz	Kohlenhydrate
Hydnum repandum	24,44 %	47,40 %
Tuber cibarium	31,64 %	29,95 %
Helvella esculenta	30,13 %	51,78 %
Morchella esculenta	33,81 %	46,30 %
Gyromitra esculenta	32,52 %	47,07 %
Lycoperdon Bovista	55,50 %	19,54 %

Nach den von MARGEWICZ mitgeteilten Zahlen ist die Substanz des Hutes stets beträchtlich eiweißreicher als die Substanz des Stieles. MÖRNER hat in eingehenden analytischen Untersuchungen den Gehalt an verdaulichem und „unverdaulichem", sowie an „Extraktiv-N" für eine Reihe von Hutpilzen festgestellt, welchen Angaben die nachstehende Tabelle entnommen ist.

		Hiervon in Proz. des Gesamt-N			In Proz. der Trockensubstanz	
	Ges.-N in Proz. der Trockensubstanz	Verdaulicher Protein-N	Unverdaulicher Protein-N	Extr.-N (löslich in 80% warm. Alkohol)	Gesamt-Protein	Unverdauliches Protein
Agaricus procerus Scop. Hut	6,23	48,1	20,4	31,5	29,7	7,4
Agaricus campestris L. Hut .	7,38	49,3	16,0	34,7	35,9	16,7
Agaricus campestris L. Fuß .	6,02	47,8	18,0	34,2	26,7	8,0
Lactaria deliciosa L.	3,11	45,3	33,8	20,9	24,8	6,8
Lactaria torminosa Fr. . . .	2,52	38,1	40,0	21,9	25,4	11,8
Cantharellus cibarius Fr. . .	2,69	29,2	54,6	16,1	17,2	4,0
Boletus edulis Bull. Hut . .	3,87	54,5	16,9	28,6	15,5	4,3
Boletus edulis Bull. Fuß . .	3,30	53,3	20,3	26,4	15,8	5,3
Boletus scaber Fr. Hut . . .	3,12	53,2	27,2	19,6	15,2	6,5
Boletus scaber Fr. Fuß . . .	2,19	45,2	28,3	26,5	17,0	9,6
Boletus luteus L..	2,51	27,8	42,2	30,0	10,1	3,8
Polyporus ovinus Fr.	1,80	27,7	46,6	26,9	12,5	6,3
Hydnum imbricatum L. . .	2,55	33,3	29,8	36,9	10,3	5,0
Hydnum repandum L. . . .	3,52	34,9	44,0	21,1	14,3	9,3
Sparassis crispa Fr.	1,18	42,9	37,4	19,7	11,1	6,8
Morchella esculenta L. . . .	4,99	43,7	38,1	18,2	5,6	2,5
Lycoperdon Bovista Fr.. . .	8,19	38,2	22,5	29,3	8,3	5,2
Mittelwert:	—	41,0	33,0	26,0	15,7	7,0

Diesen Zahlen ist auch zu entnehmen, daß die einfache Umrechnung des Gesamt-N durch Multiplication mit 6,25 viel zu hohe Eiweißwerte ergeben würde (vgl. die erste Tabelle). Der „unverdauliche" Eiweiß-N ist gewiß nicht einfach als Nuclein-N anzusehen. Für den ganzen Fruchtkörper von Boletus edulis fand STROHMER (1) 23,11 % Eiweiß, 0,15% NH_3, 3,37% Aminosäuren als Asparaginsäure gerechnet und 5,56 % Säureamide als Asparagin gerechnet. YOSHIMURA (2) gibt für Boletus edulis 5,674% Gesamt-N an, und von 100 Teilen Gesamt-N entfallen auf Eiweiß-N 64,75, auf Ammoniak-N 2,34, Nichtprotein-N 32,91. Auf den durch Phosphorwolframsäure fällbaren N entfielen 14,79 Teile. SCHMIDT und KLOSTERMANN (3) fanden in Steinpilz-Pulver 32,71% der Trockensubstanz an N-Substanz. Von der gesamten N-Substanz löste Pepsin-HCl 51,58%, Pankreasalkali 44,95%.

1) STROHMER, Chem. Zentr. (1887), p. 165. — 2) K. YOSHIMURA, Ztsch. Unt. Nahr.- u. Genußmittel, *20*, 153 (1910). — 3) P. SCHMIDT, M. KLOSTERMANN u. SCHOLTA, Deutsche med. Woch.schr., *43*, 1221 (1917).

Die Flechte Parmelia scruposa enthält nach WEIGELT (1) 7,5% Protein und HANSTEEN (2) fand in Cetraria islandica 2,81%, in Cetr. nivalis 2,35% N-haltige Stoffe. Neuere Analysen (SALKOWSKI, ELLRODT) (3) geben mehr an Eiweiß für die letzteren Flechten an. Cetraria islandica: 10,04% H_2O und 4,73% Eiweiß; Cladonia rangiferina 10,59 resp. 11,7% Wasser und 4,10 resp. 4,11% Rohprotein.

Im Peridium von Elaphomyces hirtus fand ISSOGLIO (4) 9,25% Eiweiß, im Kern 21,78%.

Der Eiweißgehalt der Schimmelpilze wurde oft bestimmt. Für Penicillium, auf Zuckergelatine cultiviert, gibt N. SIEBER (5) 29,88% Proteingehalt in der Trockensubstanz an, während derselbe Pilz auf Salmiak-Zuckerlösung 28,95% Eiweiß, also fast ebensoviel ergab. Auch ABDERHALDEN und RONA (6) fanden ähnliches bei Kultur von Aspergillus niger nach Darreichung verschiedener N-Quellen. Der Nitratpilz enthielt 3,68% N, der Glykokollpilz 3,85%, der Glutaminsäurepilz 3,52% Stickstoff. Nach STUTZER sind vom Gesamt-N der Schimmelpilze, der 3,77% der Trockensubstanz bildet, 39,4% Eiweiß-N, 40,75% Nuclein-N und 19,86% Amid- und Pepton-N. MARSCHALL (7) kultivierte Aspergillus niger, Penicillium glaucum und Rhizopus nigricans auf Pepton-Zuckerbouillon und fand für die genannten drei Pilze 30,4%, 40,2% und 43,4% Eiweiß in der Trockensubstanz. Die Gonidien von Penicillium enthalten nach CRAMER (8) 28,44% Eiweiß. ASO (9) gab für Aspergillus oryzae 6,38% Gesamt-N und 39,875% Rohprotein in der Trockensubstanz an.

Im übrigen sind die Eiweißstoffe der höheren Pilze noch sehr wenig untersucht und wenig gekannt. Die einschlägigen Studien von WINTERSTEIN, HOFMANN und REUTER (10) haben gezeigt, daß die Verhältnisse bezüglich der Pilzproteine anders liegen als bei den Samenproteinen. Es gelingt hier nicht mit 10% NaCl Eiweiß reichlich in Lösung zu bringen, wohl aber kann man, wie REUTER für Boletus edulis und ZELLNER (11) für Amanita muscaria zeigten, durch verdünnte Laugen Eiweiß extrahieren, sowie auch nach Behandlung mit konzentrierter Salzsäure. Welcher Gruppe diese Proteide zuzurechnen sind, weiß man nicht. Auch ist näher festzustellen, welchen Proteinen die Eiweißkrystalle zuzurechnen sind, welche bei Pilzen vorkommen. VAN TIEGHEM (12) entdeckte solche Gebilde in den Fruchtträgern von Pilobolus und anderen Mucorineen („Mucorin" VAN TIEGHEMS). BAMBEKE (13) wies bei Autobasidiomyceten Eiweißkrystalle in weiter Verbreitung nach. Möglicherweise kommen bei Pilzen phosphorhaltige Proteine nach Analogie des tierischen Ovovitellin und Casein vor.

In einigen Fällen wurde Pilzeiweiß nach der FISCHERschen Estermethode quantitativ auf Aminosäuren untersucht. Nach REUTER liefert das Eiweiß aus Boletus edulis viel Prolin, Asparaginsäure und Glutamin-

---

1) WEIGELT, Journ. prakt. Chem., *106*, 193. — 2) B. HANSTEEN, Chem.-Ztg., 1906, p. 638. — 3) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 105 (1919). G. ELLRODT u. R. KUNZ, Brennerei-Ztg., *35*, 8171 (1918). — 4) G. ISSOGLIO, Gazz. chim. ital., *47*, 31 (1917). — 5) N. SIEBER, Journ. prakt. Chem., *23*, 412 (1881). — 6) E. ABDERHALDEN u. P. RONA, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 179 (1905). — 7) MARSCHALL, Arch. Hyg., *28*, 16 (1897). — 8) E. CRAMER, Arch. Hyg., *20*, 196 (1894). — 9) K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *4*, 81 (1900). — 10) E. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *26*, 438 (1899). WINTERSTEIN u. J. HOFMANN, Hofmeist. Beitr., *2*, 404 (1902). WINTERSTEIN u. C. REUTER, Zentr. Bakt., II, *24*, 566 (1912). Landw. Vers.-Stat., *79/80*, p. 541 (1913). C. REUTER, Ztsch. physiol. Chem., *78*, 167 (1912). — 11) J. ZELLNER, Monatsh. Chem., *27*, 281 (1906). — 12) VAN TIEGHEM, Ann. Sci. Nat. (6), *1*, p. 5 (1875). — 13) CH. VAN BAMBEKE, Bull. Ac. Roy. Belg. (1902), p. 227.

säure, sonst Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Phenylalanin und Tyrosin (**1**). Aus dem Eiweiß von Aspergillus konnten ABDERHALDEN und RONA die aromatischen Kerne nicht sicherstellen. THOMAS (**2**), der von Aspergillus niger ein P-haltiges Paranucleoproteid angibt und geringe Mengen eines Albumins, fand für das erstere die gewöhnlichen Eiweißreaktionen, auch die der Tryptophangruppe, jedoch keine PbS-Reaktion. Cystin scheint also zu fehlen. Möglicherweise sind Pentosengruppen vorhanden. Die Hydrolyse lieferte 6,81 % NH_3-N, 4 % Humin-N, 15,63 % Diamino-N und 73,08 % Monamino-N.

Hinsichtlich der Nucleoproteide der höheren Pilze sind die Kenntnisse sehr spärlich und beschränken sich fast nur auf den Nachweis der Purinbasen in frischem oder autolytisch vorbehandelten Pilzmaterial. So ist die Frage offen, ob die Nucleinsäure der höheren Pilze allgemein mit der Hefenucleinsäure übereinstimmt. Da SULLIVAN (**3**) in den Mycelien von Bodenpilzen viel Nucleinspaltungsprodukte nachwies, die auch im Boden vorkommen, so dürften diese Organismen bei der Bildung dieser Stoffe im Boden beteiligt sein. Volutin wurde vonPilzen aus verschiedenen Gruppen angegeben.

Von einem peptonartigen Stoff aus Amanita muscaria berichtete ZELLNER (**4**).

Freie Aminosäuren verschiedener Art treten häufig im Eiweißumsatz bei Pilzen auf und werden in der Literatur oft angeführt. Dies gilt vom Leucin, das man aus Mutterkorn (**5**) sowie aus Hutpilzen (**6**) und Lycoperdon (**7**) kennt, vom Tyrosin, das von Basidiomyceten (**8**) und Gasteromyceten (**9**) bekannt ist, vom Histidin (**10**) und Arginin (**11**).

Vernin, welches wir als Guanin-Ribose-Ester kennen gelernt haben, wurde im Mutterkorn gefunden (**12**) und steht unstreitig mit dem Nucleinstoffwechsel in Beziehung.

Vierunddreißigstes Kapitel: Die Resorption von Eiweißstoffen durch Bacterien und Pilze.

§ 1.

Die proteolytischen Enzyme von Pilzen und Bacterien.

Wie überall in der Organismenwelt bei der Nutzbarmachung von Eiweißstoffen eiweißlösende und eiweißabbauende Enzyme eine hervorragende Rolle spielen, so werden diese Enzyme auch bei Pilzen und Bacterien, für welche Eiweißstoffe meist zu den wichtigsten Nahrungsmaterialien gehören, ganz allgemein gebildet. Äußerst verbreitet treten Enzyme vom Typus des Pankreastrypsins auf, welche Eiweißstoffe rasch und vollständig in Aminosäuren überführen, und die man als Bacterio-

---

1) Ähnliche Resultate erzielten: K. YOSHIMURA u. KANAI, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 178 (1913) bei einer japanischen Cortinellus-Art. — **2**) P. THOMAS u. R. MORAN, Compt. rend., *159*, 125 (1914). — **3**) M. X. SULLIVAN, Biochem. Bull., *3*, 86 (1913). — **4**) J. ZELLNER, Monatsh. Chem., *27*, 281 (1906). — **5**) BURGEMEISTER u. BUCHHEIM zit. in Flückigers Pharmakognosie, 3. Aufl. — **6**) WINTERSTEIN, REUTER, ZELLNER, l. c. — **7**) J. BLANKSMA, Chem. Weekbl., *10*, 96 (1913). — **8**) WINTERSTEIN, l. c. BOURQUELOT, Bull. Soc. Mycol. (1896), p. 153. — **9**) M. BAMBERGER u. LANDSIEDL, Monatsh. Chem., *26*, 1109 (1905). BLANSKMA, l. c. — **10**) YOSHIMURA, l. c. — **11**) F. KUTSCHER, Ztsch. Unter. Nahr.- u. Genußmittel., *21*, 535 (1911). — **12**) Vgl. FLÜCKIGER, l. c. p. 299.

resp. Pilztrypsine bezeichnet. Nach der Entdeckung des Erepsins im Dünndarm durch COHNHEIM wurde man darauf aufmerksam, daß auch in Pilzen Enzyme, welche nur Albumosen, nicht aber native Proteine angreifen, vorkommen. Enzyme, welche Polypeptide spalten, vom Typus der peptolytischen Fermente, haben sich gleichfalls bei Bacterien und Pilzen ergeben. Hingegen ist es unsicher, ob bei Pilzen und Bacterien Enzyme vorkommen, die wie Magenpepsin wohl proteolytisch, aber nicht peptolytisch wirken. Immerhin ist es, wie VINES (1) hervorgehoben hat, nicht ausgeschlossen, daß manche für einheitlich tryptische Enzyme angesehene Proteasen sich als Gemische von peptolytischen und proteolytischen Enzymen ergeben können. Seit langer Zeit kennt man endlich Labenzym von Bacterien und Pilzen. Scharf von den eigentlichen Proteasen sind die Nucleasen zu trennen. Hingegen ist es fraglich, ob die von EIJKMAN (2) bei manchen Bacterien beobachtete starke Wirkung auf Elastin einem besonderen Enzym entspricht, und ob wir das Recht haben, von speziellen Keratin lösenden Enzymen zu sprechen. Selbst für die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, hat man ein besonderes Enzym anzunehmen geglaubt, „Gelatinase“ (3). Diese gelatinelösende Wirkung ist, wie FERMI (4) für Bacterien, WILL (5) für Hefen, und HANSEN und WEHMER (6) für Schimmelpilze näher untersuchte, ungemein verbreitet, und eignet sich gut dazu, um die Gegenwart und Wirkungsweise proteolytischer Enzyme in Kulturen zu studieren.

Wie HANSEN an Schimmelpilzen zeigte, und FERMI (7) durch die proteolytische Wirksamkeit der Alkoholfällung aus der Bacterienkulturflüssigkeit erwiesen hat, diffundiert das proteolytische Enzym sehr häufig in die Kulturflüssigkeit hinaus. Teils liegt Exosmose aus lebenden intakten Zellen, also Bildung eines echten Sekretionsenzyms vor, mindestens in gewissen Lebensstadien, teils handelt es sich um Enzymaustritt aus bereits abgestorbenen Zellen. In beiden Fällen wird der biologische Zweck für den Saprophyten die Eiweißstoffe des Substrates sich zugänglich zu machen, voll erreicht. Andererseits gibt es bei der Bildung proteolytischer Enzyme durch Pilze Fälle, in denen ähnlich wie bei der Maltase aus Hefe und dem Invertin aus Monilia kein Ferment nach außen abgegeben wird, sondern die Enzyme richtige Endoenzyme darstellen. Hefen z. B. verflüssigen häufig Gelatine in Stichkulturen nur sehr langsam, während ihr Preßsaft ungleich stärkere Proteolyse erzeugt. Auch Bacterien mögen nicht selten analoge Verhältnisse bieten.

In der Anwendung von Carbolgelatine, auf welche auch Mycelstückchen usw. von höheren Pilzen gelegt werden können, hat FERMI ein praktisches Hilfsmittel zum Nachweise von Proteasen eingeführt. Nach 1—3tägigem Aufenthalte der Präparate im Brutofen beobachtet man einen verflüssigten Hof um die aufgelegten Objekte (8). Doch darf man aus negativen Resultaten keinen Schluß auf die Abwesenheit proteolytischer Enzyme ziehen, wenn auch die Probe künstlichen Trypsinzusatz sehr empfindlich anzeigt. Nach FERMI läßt sich aus der Kulturflüssigkeit

---

1) S. H. VINES, Ann. of Bot., *23*, 1 (1909); *24*, 213 (1910). — 2) C. EIJKMAN, Zentr. Bakt., I, *35*, 1 (1903). — 3) P. BERTAU, Zentr. Bakt., I, *74*, 374 (1914). — 4) CL. FERMI, Ebenda, *12*, 713 (1892). BRUNTON u. MAC FADYEN, Proc. Roy. Soc. (1890), *46*, 542. — 5) H. WILL, Ztsch. ges. Brauwes., *21*, 139 (1898); ebenda (1901), p. 113. Zentr. Bakt., II, *7*, 794 (1901). W. HENNEBERG, Ztsch. Spir.-Ind., *27* (1904). — 6) AD. HANSEN, Flora, *72*, 88 (1889). C. WEHMER, Chem.-Ztg., *19*, 2038 (1895). — 7) CL. FERMI, Arch. Hyg., *10*, *1* (1890); *12* (1891). — 8) FERMI u. BUSCALIONI, Zentr. Bakt., II, *5*, Nr. 1 (1899). F. M. MARRAS, Zentr. Bakt., I, *74*, 505 (1914); Arch. farm. sper., *24*, 3 (1917).

von Bacter. prodigiosum, Choleravibrio und anderen Formen, besonders gut beim FINKLER-PRIORschen Vibrio, das Enzym mittels Alkohol fällen und von den Bacterien trennen. Mehrfach wurde erfolgreich versucht, das Enzym durch Tonkerzenfiltration von den Mikroben zu trennen. so von MALFITANO (1) beim Bacill. anthracis.

Die vollkommenste, wenn auch nicht immer anwendbare Methode ist die Herstellung von Preßsaft. So konnten GERET und HAHN (2) zuerst die Eigenschaften des proteolytischen Enzyms der Bierhefe studieren, welches sie als Endotrypsin bezeichneten. Dieselben Forscher unternahmen es auf demselben Wege, das proteolytische Enzym vonTuberkelbazillen und Typhusbacterien nachzuweisen, was KRAUSE (3) auch bei Bacill. pyocyaneus gelungen ist.

Ferner hat man oft mit Erfolg zum Nachweise bacterieller Proteasen die EIJKMANsche Milchagarplatte benutzt (LOEB) (4). BOURQUELOT und HÉRISSEY (5) bestimmten zum Nachweise tryptischer Enzyme das Casein in entfetteter Milch vor und nach der Enzymwirkung. Das Studium der eiweißlösenden Spaltpilzenzyme bei Gegenwart von Chloroform hat SALKOWSKI (6) eingeführt. Das durch Chloroformeinwirkung auf Preßhefe eintretende Zerfließen der Masse unter Zerstörung der Zellen läßt sich sehr gut zur Gewinnung guter Enzymlösungen aus Hefe gebrauchen (7). Nach VINES (8) Vorschlag kann man bei der Untersuchung auf tryptische Hydrolyse von festem Eiweiß die Tryptophanprobe mit Chlorwasser und H_2SO_4 als Reagens gebrauchen.

Durch alle diese Methoden hat man bei den Bacterien seit den ersten Arbeiten hierüber durch HÜFNER, FERMI, RIETSCH und STERNBERG. RACZYNSKI, SALKOWSKI und andere Autoren (9) die außerordentlich große Verbreitung der Produktion von proteolytischen Enzymen sichergestellt. Schon die einfache Beobachtung der innerhalb einer gewissen Zeit verflüssigten Gelatineschicht kann einen Vergleich der proteolytischen Tätigkeit einzelner Mikrobenformen ermöglichen (10). Einfach und bequem verfolgt man den Fortgang der Proteolyse in der Kulturflüssigkeit mittels Formoltitrierung nach SÖRENSEN (11). Die Bedeutung dieser Fermente liegt in der intracellulären Umsetzung von Proteinstoffen einerseits, andererseits in der Verflüssigung der Substrateiweißstoffe im Dienste der Nahrungsaufnahme. Daß die Proteasen bei pathogenen Bacterien die Bedeutung von Angriffswaffen haben, ist unwahrscheinlich, da die pathogenen Eiterbacterien keinen Parallelismus ihrer Virulenz und ihrer proteolytischen Wirkung zeigen (12).

---

1) G. MALFITANO, Soc. Biol., *55*, 841 (1903). — 2) L. GERET u. M. HAHN, Ber. chem. Ges., *31*, 202, 2335 (1898). Ztsch. f. Biol., *40*, 117 (1900). Chem. Zentr. (1900), II, 641. Das proteolyt. Enzym d. Hefe, München (1900). — 3) P. KRAUSE, Zentr. Bakt., I, *31*, 673 (1902). — 4) A. LOEB, Ebenda, *32*, 6 (1903). — 5) BOURQUELOT u. HÉRISSEY, Compt. rend., *127*, 666 (1898). — 6) E. SALKOWSKI, Ztsch. Biol., *25*, 92 (1889). — 7) A. H. KOELKER, Ztsch. physiol. Chem., *67*, 297 (1910). — 8) VINES, Ann. of Bot. June 1903. — 9) HÜFNER, Journ. prakt. Chem., *5*, 872 (1872). CL. FERMI, Zentr. Bakt., *7*, 469 (1890). RIETSCH, Journ. Pharm. et Chim., *16*, 8 (1887). STERNBERG, Justs Jahresber. (1887), I, 111. RACZYNSKI, Zentr. Bakt., *6*, 112 (1889). SALKOWSKI, l. c. Milch-Streptococcen: BARTHEL u. SANDBERG, Zentr. Bakt., II, *49*, 392 (1919). Pyocyaneus: LAUNOY, Compt. rend. Soc. biol., *82*, 263 (1919). — 10) H. DE WAELE u. VANDEVELDE, Zentr. Bakt., I, *39*, 353 (1905). J. BIELECKI, Compt. rend., *150*, 1548 (1910); J. LAUBER, Zentr. Bakt., I, *56*, 542 (1910). — 11) ROSENTHAL u. PATAI, Zentr. Bakt., I, *73*, 406; *74*, 369 (1914). Messung der Proteolyse ferner: GRIGAUT, GUÉRIN u. POMMAY-MICHAUX, Compt. rend. Soc. Biol., *82*, 66 (1919). Mittels des Kresol-Tyrosinasereagens von Chodat: BRESLAUER, Ztsch. Gär.physiol., *4*, 353 (1914); Bull. Soc. Bot. Genève (2), *8*, 319 (1916). — 12) KNAPP, Ztsch. Heilkunde, *23*, Heft 9 (1902).

Praktisch wichtig sind besonders die peptonisierenden Bacterien der Milch (**1**). Für die Casein verflüssigende Wirkung wurde ein besonderes Enzym (Casease) vermutet (**2**). TISSIER (**3**) meint, daß die anaeroben Bacterien am stärksten proteolytisch wirken. Ein pflanzenparasitisch lebendes Bacterium, das Bact. Nicotianae, hat UYEDA (**4**) als tryptisch wirksam erkannt. SAWAMURA (**5**) fand auf Protein aus Sojabohnen den kräftig wirksamen Bac. natto. Hingewiesen sei noch auf die kräftige Proteolyse durch die Bacterien der Eiweißfäulnis (**6**) und manche krankheitserregende Blutparasiten (**7**). Hingegen verändert der Glucobacter von BERNARD (**8**) aus dem Darm des Hundes Eiweiß nicht, verflüssigt auch Gelatine nicht. Von den naheverwandten Fadenbacterien des Süßwassers verflüssigt nach ZIKES (**9**) Cladothrix dichotoma Gelatine äußerst langsam, Sphaerotilus hingegen rasch.

Beim Choleravibrio gelingt es nach BITTER (**10**) durch halbstündiges Erhitzen der Kulturen auf 60° die Bacterien zu töten, ohne das Gelatine verflüssigende Enzym zu zerstören. Das Enzym des Vibrio FINKLER-PRIOR verträgt nach FERMI (**11**) 10 Minuten langes Erhitzen auf 120—140° im trockenen Zustande. Daß Bacterienproteasen recht hitzebeständig sein können, ergab ferner die Untersuchung des Enzyms von Bact. prodigiosum durch MESERNITZKY sowie durch GRÖER (**12**), wo auch die Schutzwirkung der Substratgelatine näher bestimmt worden ist. Sauerstoffzutritt soll nach LIBORIUS (**13**) bei vielen aeroben Formen zur Ausbildung des proteolytischen Enzyms nötig sein. Gegenwart von Eiweißstoffen ist nach FERMI (**14**) keine Vorbedingung zur Produktion der Protease. Allerdings wirkt eiweißreiches Substrat fördernd auf die proteolytische Wirksamkeit (**15**).

Bacterienproteasen sind nach den übereinstimmenden Erfahrungen verschiedener Forscher (**16**) gegen Säuren sehr empfindlich. Alkali wird nicht in so weitgehendem Maße vertragen, wie bei Pankreastrypsin. Fluornatrium hemmt sehr stark. Die proteolytische Wirkung bei Bac. anthracis wird nach BIELECKI (**17**) durch Kalksalze gefördert. Zuckerzusatz vermag, wie AUERBACH (**18**) angibt, die Gelatineverflüssigung bei Bacterien entschieden herabzusetzen, doch kann dies nur auf einer Verringerung der Trypsinpro-

1) Hierzu: KENDALL, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 1937 (1914). GORINI, Atti Acc. Linc. (5), *24*, II, 369, 470 (1915); *26*, II, 195, 223 (1917); SWIATOPELK-ZAWADZKI, Ztsch. Unt. Nahr., *32*, 161 (1916). Caseinspaltung: BARTHEL, Zentr. Bakt., II, *44*, 76 (1915). CORNISH u. WILLIAMS, Biochem. Journ., *11*, 180 (1917). Umsatz von Galalith durch Bodenbacterien: E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *90*, 17 (1917). — **2**) Vgl. C. HIRT, Botan. Zentr., *86*, 145 (1901). KALISCHER, Arch. Hyg., *37*, 30 (1900). BERNSTEIN, Chem. Zentr. (1896), I, 317. F. W. BOEKHOUT u. J. OTT DE VRIES, Zentr. Bakt., II, *12*, 587 (1904). Casease: P. MAZÉ, Ann. Pasteur, *19*, 481 (1905). O. LAXA, Milchwirtsch. Zentr., *3*, 200 (1907). — **3**) TISSIER, Ann. Pasteur, *26*, Heft 7 (1912), p. 522. — **4**) Y. UYEDA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 39 (1906). — **5**) S. SAWAMURA, Orig. Com. 8. Int. Congr. Appl. Chem., *14*, 145 (1912). — **6**) Vgl. KLIGLER, Biochem. Bull., *4*, 195 (1915). R. J. WAGNER, Ztsch. Unt. Nahr., *31*, 233 (1916). — **7**) Für B. paratyphi B: DE GRAFF, Bull. Sci. Pharm., *23*, 257 (1916). — **8**) BERNARD, Pharm.-Ztg., *59*, 589 (1914). — **9**) H. ZIKES, Zentr. Bakt., II, *43*, 529 (1915). — **10**) H. BITTER, Arch. Hyg., *5*, 241 (1886). — **11**) CL. FERMI, Arch. Hyg., *10*, 1 (1890); *12* (1891). — **12**) P. MESERNITZKY, Biochem. Ztsch., *29*, 104 (1910). F. v. GRÖER, Ebenda, *38*, 252 (1912). Diss. Breslau 1912. Auch K. MEYER, Biochem. Ztsch., *32*, 274 (1911). — **13**) LIBORIUS, Ztsch. Hyg., *1*, 115. — **14**) FERMI, Zentr. Bakt., *10*, Nr. 13 (1891). — **15**) SCHMAILOWITSCH, Biochem. Zentr. 1903, Ref. 467; MATZUSCHITA, Zentr. Bakt., I, *28*, 303 (1900). Diffusionsfähigkeit von Bacterienprotease: KELLERMANN, Zentr. Bakt., II, *34*, 56 (1912). HABERLANDT, Beitr. allg. Botan., *1*, 501 (1918). — **16**) F. v. GRÖER, l. c. E. LAZARUS, Compt. rend., *149*, 423 (1909); K. MEYER, l. c. DRUMMOND, Biochem. Journ., *8*, 38 (1914). — **17**) J. BIELECKI, Compt. rend. *152*, 1875 (1911). — **18**) W. AUERBACH, Arch. Hyg., *31*, 311 (1897).

duktion beruhen. Gegenwart von Alkaloiden kann nach FERMI (1) die Bildung von Bacterienproteasen hemmen und selbst aufheben. Derselbe Forscher (2) fand, daß manche Anilinfarben, wie Vesuvin, Trypsinwirkungen schwächen. SCHAILOWITSCH gibt an, daß man Bacteriotrypsine so rein darstellen kann, daß sie keine Eiweißreaktionen mehr geben. Bezüglich der Reaktionskinetik existieren nur wenige Angaben. FUHRMANN (3) fand bei kleinen Fermentmengen die verflüssigte Gelatinemenge proportional der Einwirkungszeit, während GRÖER ein exponentielles Abhängigkeitsverhältnis angibt. Dieselbe Differenz der Angaben erstreckt sich auf die Abhängigkeit des Effektes von der Enzymmenge.

Daß die Wirkung der Bacteriotrypsine auf Eiweißstoffe mit der Pankreastrypsinwirkung übereinstimmt, ist mehrfach festgestellt worden (4). Nach MAVROJANNIS (5), dessen Befunde durch TIRABOSCHI (6) bestätigt worden sind, verhält sich die von verschiedenen Bacterien verflüssigte Gelatine gegen Formol nicht gleich. In manchen Fällen erstarrt sie auf Formolzusatz, in anderen bleibt sie flüssig. Wahrscheinlich hängt dies mit dem verschieden weitgehenden Abbau der Gelatine zusammen. Die Gelatine härtende Wirkung, welche SMITH (7) von einer Schleimflußbacterie angibt, bedarf noch weiterer Aufklärung. Die schwer löslichen Aminosäuren, wie Tyrosin, können sich bei niederer Temperatur bis zum Entstehen krystallinischer Ausscheidungen anhäufen (8). Die Vorstellungen, welche SSADIKOW (9) von der Angriffsweise der Bacteriotrypsine entwickelt, und die darin gipfeln, daß die gebildeten Aminosäuren nicht primären Ursprunges sind, sondern sekundär synthetisch entstandene Produkte seien, steht in vollständigem Widerspruch mit der heutigen Eiweißchemie und dürfte wohl einer Ablehnung sicher sein. ZAK (10) beobachtete bei der Wirkung der Pyocyaneusprotease die intermediäre Albumosenbildung.

Neuere Erfahrungen haben ergeben, daß Enzymwirkungen auf Peptone (11) und Polypeptide bei Bacterien verbreitet vorkommen. Das nähere Verhältnis der hierbei in Frage kommenden Enzyme zu den proteolytischen Wirkungen bedarf allerdings noch der Feststellung. Bei den von SPERRY untersuchten Bacterien (12) wurden reine Präparate von nativen Eiweißkörpern nicht zersetzt, wohl aber erfolgte bei Gegenwart von Peptonen vollständige Proteolyse. Bacterionucleasen werden in der Literatur wenig erwähnt, obwohl es keinem Zweifel unterliegt, daß Nucleinsäuren durch Bacterien verbreitet gespalten werden können (13). Bacterien der menschlichen Darmflora spalten Nuclein-N binnen 20 Tagen zu 70—100% bis zu Ammoniak auf unter völliger Zerstörung der Puringruppen (14). Nucleinspaltungsprodukte wurden auch im Boden nachgewiesen (15).

---

1) FERMI, Arch. Hyg., *14*, 1 (1892). — 2) FERMI u. REPETTO, Zentr. Bakt., I, *31*, 403 (1902). — 3) FUHRMANN, Vorlesungen über Bacterienenzyme, p. 46. — 4) Vgl. F. CACACE, Zentr. Bakt., *30*, 244 (1901). Auch E. ABDERHALDEN u. O. EMMERLING, Ztsch. physiol. Chem., *51* 394 (1906). A. HOROWITZ-VLASSOWA, Arch. Sci. Biol., *15*, 40 u. 428 (1911). — 5) A. MAVROJANNIS, Ztsch. Hyg., *45*, 108 (1904). — 6) C. TIRABOSCHI, Ann. d'Ig. sper., *15*, Heft 3 (1906). F. G. CHARASOW, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 761. — 7) R. GR. SMITH, Proc. Linn. Soc. N. S. Wales (1905). Bot. Zentr., *104*, 123. — 8) Vgl. PIETTRE, Compt. rend., *158*, 1934 (1914). Für Leucin: PLAISANCE, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 2087 (1917). — 9) W. S. SSADIKOW, Biochem. Ztsch., *41*, 287 (1912). — 10) E. ZAK, Hofmeist. Beitr., *10*, 287 (1907). — 11) Spaltung von Peptonen: E. ABDERHALDEN, PINCUSSOHN u. WALTER, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 471 (1910); Seidenpepton: W. WEICHARDT, Zentr. Physiol. d. Stoffwechs., *5*, 131 (1910); Glycyltyrosin: T. SASAKI, Biochem. Ztsch., *47*, 462 (1912). Proteosen u. Peptone im Boden: WALTERS, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 860 (1915). — 12) SPERRY u. RETTGER, Journ. Biol. Chem., *20*, 445 (1915). — 13) Für Bac. mesentericus: A. HOROWITZ-VLASSOWA, Arch. Sci. Biol., *15*, 40 (1911). — 14) THANNHAUSER u. DORFMÜLLER, Ztsch. physiol. Chem., *102*, 148 (1918). — 15) Torf: BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., B, *90*, 39 (1917).

Nach MUCH (1) bringt Staphylococcus aureus ein Blut gerinnendes Enzym, eine Thrombokinase hervor.

Lebende Bacterien werden durch Pepsin-HCl oder Trypsin nicht angegriffen, während tote Bacterienzellen angreifbar sind (2). Dies beruht wahrscheinlich auf der Existenz resistenter Proteine in der lebenden Zelle, nicht, wie öfters angenommen worden ist, auf der Gegenwart von Antiprotease in lebenden Mikrobenzellen. Pepsinlösung wird durch Fäulnisbacterien rasch zerstört (3).

Die Hefen wirken, wie BEIJERINCK und WILL zeigten (4), sämtlich proteolytisch auf die dem Substrate zugesetzten Eiweißstoffe. Die stärkste Wirkung fand BEIJERINCK bei Schizosaccharomyces octosporus. Von diesem Forscher wird auch die Bedeutung der absterbenden Zellen für die Gegenwart des proteolytischen Enzyms im Substrate gewürdigt. Doch findet bei Willia anomala nach WILL sicher Exosmose des Enzyms aus intakten lebenden Zellen statt, während bei Oidium lactis nur Endotrypsin gebildet wird. Andere Oidiumformen produzieren nach SCHNELL (5) Sekretionsenzym. Für Torula-Arten untersuchte WILL (6) die Gelatineverflüssigung. TAKAHASHI studierte die Proteolyse durch die japanische Sakéhefe (7).

Da GERET und HAHN (8) fanden, daß der Hefepreßsaft auf verschiedene Eiweißstoffe viel energischer wirkt, als eine Hefekultur die Eiweißsubstanzen ihres Substrates verflüssigt, ist es berechtigt, mit diesen Forschern das proteolytische Enzym der Hefe als ein intracelluläres Enzym, Endotrypsin oder „Endotryptase" von GERET und HAHN, anzusehen. Schon in älterer Zeit lenkten die Erscheinungen der Autodigestion der Hefe, bei der, wie bereits SCHÜTZENBERGER und andere Forscher fanden, zahlreiche Aminosäuren entstehen, die Aufmerksamkeit auf die Möglichkeit, daß den Hefen tryptisches Enzym eigen sei. SALKOWSKI (9) bewies zuerst, daß die Selbstgärung der Hefe im wesentlichen ein enzymatischer Vorgang ist. Später hat KUTSCHER (10) die wichtigsten tryptischen Spaltungsprodukte bei der Hefeautolyse nachgewiesen, und so alle Zweifel an der Natur dieses Prozesses beseitigt. Von anderer Seite wurde die Selbstverdauung der Hefe als Autophagie bezeichnet (11). Derselbe Vorgang stellt sich ein, wenn Preßhefe, mit Chloroform versetzt, zerfließt, infolge Tötung der Zellen und der eintretenden tryptischen Wirkung (12). Nach SCHÜTZ (13) wirkt das Hefetrypsin auf die verschiedensten Eiweißstoffe ein, doch scheint es, als ob die der Hefe eigenen Proteine am schnellsten gespalten würden. GERET und HAHN

---

1) H. MUCH, Biochem. Ztsch., *14*, 143 (1908). — 2) CL. FERMI, Arch. di Farm. Sper., *8*, 481 (1909); *10*, 1 (1911); Zentr. Bakt., *56*, 55 (1910); *52*, 252 (1909); BÜRGERS, SCHERMANN u. F. SCHREIBER, Ztsch. Hyg., *70*. 119 (1912). H. DE WAELE. Zentr. Bakt., I, *50*, 40 (1909). KRUSE, Münch. med. Woch.schr., *57*, 10. Heft (1910). — 3) J. PAPASOTIRION, Arch. Hyg., *57*, 269 (1906). — 4) BEIJERINCK, Zentr. Bakt. (1897), p. 521. DELBRÜCK, Kochs Jahresber. (1893), p. 139. H. WILL, Ztsch. ges. Brauwes., *21*, 139 (1898). Zentr. Bakt., II, *7*, 794 (1901). — 5) E. SCHNELL, Zentr. Bakt., *35*, 22 (1912). WEIDENBAUM, Zentr. Bakt. (1892), 69. — 6) H. WILL, Ebenda, II, *34*, 1 (1912). — 7) TAKAHASHI, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 395 (1902). — 8) GERET u. HAHN in Buchners Zymasegärung (1903), p. 287. HAHN u. LAFAR, Handb. techn. Mykol., IV, 438 (1907). — 9) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *13*, 506 (1889); *31*, 323 (1900). — 10) KUTSCHER, Ztsch. physiol. Chem., *32*, 59 u. 419 (1900). Über Autolyse von Hefe und Schimmelpilzen ferner: DOX, Journ. Biol. Chem., *16*, 479 (1914). N. IWANOFF, Biochem. Ztsch., *63*, 359 (1914). ZALESKI u. SCHATALOFF, Ebenda, *69*, 294 (1915). H. S. REED, Journ. Biol. Chem., *19*, 257 (1914); *21*, 159 (1915). K. G. DERNBY, Biochem. Ztsch., *81*, 107 (1917). VANSTEENBERGE, Ann. Inst. Pasteur, *31*, 601 (1917). — 11) Vgl. J. EFFRONT, Monit. Sci. (4), *19*, II, 485 (1905). M. SCHENCK, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 1511. — 12) Vgl. A. H. KOELKER, Ztsch. physiol. Chem., *67*, 297 (1910). — 13) J. SCHÜTZ, Hofmeist. Beitr., *3*, 433 (1902).

fanden, daß Hefetrypsin am besten bei schwach saurer Reaktion wirkt, entsprechend 0,2% HCl; dasselbe scheint nach PANTANELLI (1) von dem Enzym der Weinhefe zu gelten. Der autolytische Effekt kann, wie DERNBY ausführt, nur bei solchen H-Ionenkonzentrationen vor sich gehen, welche eine gleichzeitige Tätigkeit aller proteolytischen Hefeenzyme gestatten, von denen dieser Forscher drei: ein Pepsin, ein Erepsin und ein Trypsin annimmt. VANDEVELDE fand zwar günstige Wirkung von Natriumkarbonat (2), doch wirken Alkalien allgemein stark nachteilig. Primäres Kaliumphosphat fördert nach IWANOFF (3) die Wirkung der Hefeprotease, vielleicht aber nur infolge der sauren Reaktion. GERET und HAHN gewannen aus Hefe Trypsinpräparate, welche keine Millonsche und keine Biuretprobe mehr gaben. Die Acetondauerhefe, Zymin, besitzt nach GROMOW und GRIGORIEW (4) ebenfalls intensive proteolytische Wirkung. Größere Zusätze von Zucker (60—80% Rohrzucker), Mannit, Glycerin hemmen die Arbeit des Endotrypsins aus abgetöteter Hefe sehr stark. Hemmung bedingt auch Anwesenheit von Chinin oder Alkohol, während Kaliumnitrat und Calciumchlorid fördernden Einfluß entwickeln. Über die Temperatureinflüsse handelt eine Arbeit von PETRUSCHEWSKY, wo auch auf die Zymasezerstörung durch das Hefetrypsin eingegangen wird (5).

Proteosen konnten von den meisten Untersuchern bei der Hefetrypsinwirkung nur vorübergehend und in geringer Menge nachgewiesen werden, Pepton gar nicht. Doch gibt BOKORNY (6) an, daß man bei der Wirkung frischer Preßhefe auf Fleischmehl unter Zusatz von 1,5% Phosphorsäure reichlich Pepton nachweisen könne, und will daraus schließen, daß in der Hefe neben einem tryptischen noch ein peptisches Enzym vorhanden sei. Jedenfalls ist die Peptasewirkung der Hefe quantitativ zurücktretend. Peptonartige Körper im Inneren von Hefezellen wurden übrigens von VLAHUTA (7) nachgewiesen; die Zymase befand sich in dieser Peptonfraktion. Ferner haben es Versuche von VINES (8) wahrscheinlich gemacht, daß neben dem Hefetrypsin ein erepsinartiges Ferment vorkommt. Ein rasch hergestelltes Wasserextrakt aus Dauerhefe wirkt nicht fibrinlösend, während ein mit 2% NaCl hergestelltes Extrakt das Fibrin gut verdaut. Wie die Tryptophanprobe erweist, wirken aber beide Extrakte auf WITTE-Pepton gleich stark ein. Dies ist nach VINES am besten durch die Annahme zu erklären, daß in der Hefe ein in Wasser schwer und in Salzlösung gut lösliches Trypsin vorhanden ist, außerdem aber ein wasserlösliches Erepsin. Daß das Hefeenzym verschiedene synthetisch gewonnene Polypeptide spaltet, ist mehrfach sichergestellt worden (9). Die von KRASNOGORSKI (10) in Hefe, aber auch in Pilzen und Bacterien gefundene Substanz, welche die Pepsinwirkung hemmt und die er als „Antipepsin" bezeichnet, ist noch nicht aufgeklärt. Erwähnt sei noch, daß KOSTYTSCHEW (11) Anhaltspunkte

---

1) E. PANTANELLI, Zentr. Bakt., II, *31*, 545 (1911). — 2) A. J. VANDEVELDE, Bull. Soc. Chim. Belg., *26*, 107 (1912). — 3) N. IWANOFF, Ztsch. Gär.physiol., *1*, 230 (1912). — 4) T. GROMOW u. O. GRIGORIEW, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 299 (1904). GROMOW, Ebenda, *48*, 87 (1906). — 5) A. PETRUSCHEWSKY, Ebenda, *50*, 251 (1906). — 6) TH. BOKORNY, Beiheft botan. Zentr., *13*, 235 (1903). Ztsch. Spir. Ind., 15. Jan. 1900. Allg. Brau.- u. Hopf.ztg., *54*, 2533 (1914). Ferner: IWANOW, Biochem. Journ., *12*, 106 (1917). Vgl. auch M. L. FOSTER, Journ. Am. Chem. Soc., *35*, 916 (1913) für Cladothrix chromogenes (Actinomyces). E. MACÉ, Compt. rend., *141*, 147 (1905). — 7) EUG. VLAHUTA, Bull. Ac. Roum., *3*, 123 (1914). — 8) S. H. VINES, Ann. of Bot., *18*, 289 (1904); *23*, 1 (1909). — 9) A. H. KOELKER, Journ. biol. Chem., *8*, 145 (1910). Ztsch. physiol. Chem., *67*, 297 (1910). ABDERHALDEN u. Y. TERUUCHI, Ebenda, *49*, 21 (1906). — 10) N. J. KRASNOGORSKI, Biochem. Zentr., *5*, 436 (1906). — 11) KOSTYTSCHEW u. BRILLIANT, Ztsch. physiol. Chem., *91*, 372.

dafür gefunden hat, daß die Enzyme des Hefemacerationssaftes aus den Eiweißzerfallsprodukten unter bestimmten Bedingungen Kondensationen (Eiweißrückbildung?) veranlassen können.

Bei höheren Pilzen sind proteolytische Enzyme äußerst verbreitet. Von den einschlägigen Angaben seien nur die vielfachen Untersuchungen des proteolytischen Enzyms von Aspergillus und Penicillium durch A. HANSEN, WEHMER, MALFITANO, BUTKEWITSCH und andere Forscher (1), von Mucor durch CHRZASZCZ (2), von Monilia durch WENT (3), von Pseudodematophora durch BEHRENS (4), von Glomerella durch REED (5), von Stachybotrys atra durch ZOPF (6), von Ustilago-Arten durch HERZBERG (7) erwähnt. Interessante Beobachtungen über Proteolyse durch Mycorrhizapilze bringt SHIBATA (8). Bei Hutpilzen wiesen HJORT, BOURQUELOT und HÉRISSEY, KOHNSTAMM, letzterer für holzbewohnende Pilzformen, sowie FERMI und BUSCALIONI (9) Proteasen in weiter Verbreitung nach. Die beiden letztgenannten Forscher erzielten auch bei Flechten positive Resultate.

Die Resorption von Keratin durch Pilze, welche bei der durch M. WARD (10) studierten Lebensweise von Onygena equina in Frage kommt, ist noch sehr wenig gekannt. KÖLLIKER (11) berichtete auch von Pilzen, die im Horngerüst von Spongien leben. Eine offene Frage ist es schließlich, ob die bei der Zerstörung des Chitinpanzers von Insekten durch parasitische Pilze (12) in Betracht kommenden Enzyme etwas mit den proteolytischen Enzymen zu tun haben.

Die Pilzproteasen wirken, wie wiederholt, z. B. durch HJORT, MALFITANO, BUTKEWITSCH nachgewiesen wurde, auf Eiweißsubstanzen ganz analog wie Pankreastrypsin. Das Aspergillusenzym entfaltet nach MALFITANO seine beste Wirkung bei fast neutraler bis schwach saurer Reaktion. Daß die Produktion des Pilztrypsins von der Darbietung eines eiweißreichen Nährbodens abhängig sein kann, wurde für Monilia sitophila durch WENT gezeigt. Anwesenheit von freiem Sauerstoff ist keine notwendige Vorbedingung für die Trypsinbildung. Auch bei den Pilzen ist die Frage aufgetaucht, ob nicht anscheinend tryptische Effekte durch ein Zusammenwirken eines pepsinartigen und eines ereptischen Enzyms zustande kommen können, was für Psalliota campestris VINES in ähnlicher Weise wie für Hefe erläutert hat. Daß in Hutpilzen erepsinartiges Enzym vorkommt, haben

---

1) A. HANSEN, Flora, *72*, 88 (1889); C. WEHMER, Chem.-Ztg., *19*, 2038 (1895). Zentr. Bakt., II, *2*, 140 (1896); MALFITANO, Ann. Pasteur, *14*, 60, 420 (1900). SAITO, Bot. Mag. Tokyo, *17*, Nr. 201 (1904). W. BUTKEWITSCH, Jahrb. wiss. Bot., *38*, 147 (1902). A. BLOCHWITZ, Zentr. Bakt., *39*, 497 (1913). Aspergillus Oryzae (Takaferment): J. WOHLGEMUTH, Biochem. Ztsch., *39*, 324 (1912). O. SZÁNTÓ, Ebenda, *43*, 31 (1912). K. OKAZAKI, Zentr. Bakt., II, *19*, 481 (1907). Milchpeptonisierung durch Schimmelpilze: A. SARTORY,' Soc. Biol., *64*, 789 (1908). Aspergillusarten: OKAZAKI, Zentr. Bakt., *42*, 225 (1914). Penicillium: FRANCESCHELLI, Ebenda, *43*, 305 (1915). — 2) T. CHRZASZECZ, Zentr. Bakt., II, *7*, 332 (1901). W. GIESEBRECHT, Diss. Würzburg 1915. — 3) F. A. WENT, Jahrb. wiss. Bot., *36*, 655 (1901). Fusarium u. Monilia: D. BRUSCHI, Accad. Linc. Roma, *21*, 225 (1912). — 4) BEHRENS, Zentr. Bakt., II (1897), p. 641. — 5) H. S. REED, Ann. Rep. Virginia Agr. Ex. Sta. 1911—12, p. 51. — 6) ZOPF, Die Pilze (1890), p. 449. — 7) HERZBERG, Zopfs Beitr. 1895. — 8) SKIBATA, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 670 (1902). — 9) HJORT, Zentr. Physiol., *10*, 192 (1896). Coprinus: SACHS Vorlesungen, 2. Aufl., p. 381 u. J. R. WEIR. Flora *103*, 270 (1911). BOURQUELOT u. HÉRISSEY, Journ. Pharm. et Chim. (6), *8*, 448 (1898). Bull. Soc. Mycol., *15*, 60 (1899). PH. KOHNSTAMM, Beih. botan. Zentr., *10*, 90 (1901). A. H. BULLER, Ann. of Bot. (1906), p. 49. FERMI u. BUSCALIONI, Zentr. Bakt., II, *5* (1899). — 10) MARSH. WARD, Phil. Trans. Roy. Soc., B, *191*, p. 269 (1899). Ausbreitung von Hyphomyceten im Horngewebe: KRAUS, Ztsch. wiss. Mikr., *22*, 572 (1906). — 11) KÖLLIKER, Ztsch. wiss. Zoolog., *10*, 217 (1859). — 12) Ausbreitung des Mycels von Cordyceps in Chitinhäuten: BARY, Morphol. d. Pilze, p. 381.

auch DELEZENNE und MOUTON (1) gezeigt, die außerdem darauf aufmerksam machten, daß der Saft von Amanita und anderen Hutpilzen Pankreassekret ebenso aktiviert, wie die Enterokinase des tierischen Dünndarmes. Pilzerepsin wurde ferner für Polyporus squamosus durch BULLER (2), für das Takaferment aus Aspergillus oryzae durch VINES und durch WOHLGEMUTH, für Glomerella und Sphaeropsis durch REED (3) nachgewiesen. Die Frage ist also nur, ob in Pilzen ein dem Pepsin analog wirksames Enzym, welches Eiweiß löst, jedoch keine Aminosäuren bildet, allgemeiner vorkommt.

Mit den Pilzproteasen hängt endlich das Vorkommen größerer Mengen von Aminosäuren und deren Derivate im Stoffwechsel zusammen. Sehr auffallend ist nach MOLLIARD (4) die reichliche Bildung von Glykokoll durch die auf Zygaena parasitisch lebende Isaria densa. Der Farbstoff von Lycoperdon gemmatum, von KOTAKE und NAITO (5) als Gemmatein bezeichnet, leitet sich wohl von Tyrosin ab; es gibt mit Ätzkali p-Oxyphenylessigsäure, mit H_2O_2 angeblich Homogentisinsäureanhydrid. Auch der Umsatz von Schwefel aus den Cystingruppen gehört hierher (6).

Die Pilznucleasen sind im ganzen wenig studiert worden. IWANOFF (7) kam bei seinen Untersuchungen über Spaltung von Nucleinsäuren durch Schimmelpilze zum Ergebnis, daß man das wirksame Enzym vom Mycel trennen kann, und zeigte dessen Verschiedenheit von dem Pilztrypsin. Angaben über Nuclease aus Pholiota mutabilis und Evernia prunastri (Flechte) findet man bei TEODORESCO (8) (Temperatureinfluß). Am meisten wurde seit SALKOWSKIS Forschungen die Nucleinspaltung bei Hefen beachtet. AMBERG und JONES (9) wiesen nach, daß Hefe wohl die eigene Nucleinsäure spaltet, jedoch nicht die Thymusnucleinsäure. Bei der Anwendung von Hefepulver als Fermentmaterial gelang es, Guanosin als Intermediärprodukt der Hydrolyse festzustellen. In Penicillium glaucum fand SULLIVAN (10) Hypoxanthin, Guanin, Adenin und Thymin als Derivate des Nucleinstoffwechsels; aus Amanita muscaria isolierte BUSCHMANN (11) Hypoxanthin (überwiegend) und Xanthin.

Den Myxomycetenplasmodien fehlen gleichfalls proteolytische Enzyme nicht. In Fuligo varians wurde Trypsin zuerst von KRUKENBERG (12) nachgewiesen; ČELAKOVSKÝ (13) studierte die Aufnahme und Verdauung von Eiweiß bei verschiedenen lebenden Myxomyceten. Dem letzteren Autor zufolge pflegt der Inhalt der Verdauungsvacuolen meist neutral, seltener sauer zu reagieren. Aus Erdamöben isolierte MOUTON (14) ein tryptisches Enzym, welches bei sehr schwach alkalischer Reaktion am besten wirkt und bei 60° abgetötet wird. Daß Fuligo varians auch angesäuerte Gelatine verflüssigt, ist durch SCHROEDER (15) gezeigt worden.

Fuligo enthält diesem Autor zufolge außerdem Labenzym, das überhaupt bei Bacterien und Pilzen sehr verbreitet ist, dessen Funktion aber nicht aufgeklärt ist. Bacterienlab wird in Arbeiten von HUEPPE, DUCLAUX,

---

1) C. DELEZENNE u. H. MOUTON, Compt. rend., *136*, 633 (1903). Soc. biol., *55*, 27 u. 327 (1903). — 2) A. H. BULLER, l. c. — 3) H. S. REED u. H. S. STAHL, Journ. biol. Chem., *10*, 109 (1911). — 4) MOLLIARD, Compt. rend., *167*, 786 (1918). — 5) KOTAKE u. NAITO, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 254 (1914). — 6) Vgl. TANNER, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 663 (1918). — 7) L. IWANOFF, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 31 (1903). — 8) TEODORESCO, Compt. rend., *155*, 554 (1912). — 9) S. AMBERG u. W. JONES, Journ. biol. Chem., *13*, 441 (1913). — 10) SULLIVAN, Biochem. Bull., *3*, 86 (1913). — 11) E. BUSCHMANN, Pharm. Post, *45*, 453 (1912). — 12) KRUKENBERG, Untersuch. physiol. Inst. Heidelberg *2*, 273. Protease aus Myxamöben: M. PINOY, Soc. Biol., *58*, 769 (1905). — 13) CELAKOWSKÝ jun., Flora 1892, Erg.bd., p. 237. — 14) H. MOUTON, Compt. rend., *133*, 244 (1901). Soc. biol., *53*, 801 (1901). — 15) H. SCHROEDER, Hofmeist. Beitr., *9*, 153 (1907).

Flügge, Warington, Conn, Gorini, Huysse, Kalischer und anderer Forscher (1) erwähnt. Bei der Bacterienflora der Milch ist die labende Wirkung sehr ausgeprägt. Die Mikroben können auf das Casein erst labend und dann peptonisierend wirken; es kommt gar nicht zur Labgerinnung, wenn das Casein rasch weiter hydrolysiert wird. Nach Gorini bildet Micrococcus prodigiosus das Labenzym nicht nur bei Gegenwart von Milchcasein und Milchzucker. Conn gelang es, das Bacterienlab durch Porzellankerzen zu filtrieren und aus dem Filtrate zu fällen.

Mit dem Labferment der höheren Pilze hat sich besonders Gerber (2) eingehend befaßt. Es handelt sich um Fermente, welche bei schwach saurer Reaktion am besten wirken, gegen Alkali sehr empfindlich sind und durch Gegenwart von Kalksalzen stark in ihrer Wirkung gefördert werden. Schwermetalle in kleinen Mengen stimulieren die Wirkung. Bruhne (3) fand labende Wirkung bei Hormodendron hordei, Saito (4) auch bei Aspergillus oryzae. Das Labenzym der Hefe hat Rapp (5) näher bekannt gemacht. Angaben über das Labferment von Rhizopus nigricans bei Durandard (6).

Nach den vorliegenden Erfahrungen haben die proteolytischen Enzyme allgemein die Bedeutung körperfremde heterogene Eiweißstoffe der Nahrung zu zerstören und zu Materialien umzuwandeln, die zur Herstellung von körpereigenen Proteinstoffen tauglich sind (7). Sollte es sich herausstellen, daß die proteolytischen Enzyme auch bei der Eiweißsynthese tätig sind, so hätten wir in ihnen geradezu die Vermittler zur Herstellung des arteigenen Eiweiß der Organismen zu erblicken. Dabei ist zu berücksichtigen, daß, nach den Differenzen der Antienzyme zu schließen, die proteolytischen Enzyme selbst differente und arteigene Stoffe darstellen.

Unerledigt ist noch die Frage für den Eiweißstoffwechsel der Bacterien und Pilze, ob dargereichte Eiweißstoffe unbedingt bis zu Aminosäuren aufgespalten werden müssen, bevor der Organismus daraus sein eigenes Eiweiß aufbaut, oder ob größere Komplexe, wie Polypeptide, Peptone oder selbst Albumosen in das arteigene Eiweiß übernommen werden können. Doch ist es unwahrscheinlich, daß größere Komplexe des Nahrungseiweiß in Körpereiweiß direkt übergehen; einfacher zusammengesetzte Peptide könnten unter Umständen ohne Hydrolyse bei der Synthese Verwendung finden. Die Studien der Tierphysiologen, wie sie von O. Loewi angebahnt, und besonders durch Abderhalden durchgeführt worden sind, führten zu der Überzeugung, daß der Eiweißbedarf höherer Tiere vollständig durch das Aminosäurengemisch aus abgebautem Eiweiß gedeckt werden kann (8). Es ist derzeit die wahrscheinlichste Ansicht, daß bei der Eiweißresorption der Bacterien und Pilze ganz analoge Verhältnisse vorliegen. Doch fehlen experimentelle Arbeiten auf dem Gebiete der Pilzphysiologie noch ganz, sowie es der Fest-

---

1) Hueppe, Deutsche med. Woch.schr. (1884), Nr. 48. Duclaux, Compt. rend. (1891). Flügge, Ztsch. Hyg., *17*, 272. Warington, Zentr. Bakt., *6*, 648. H. W. Conn, Ebenda, *9*, 653; *12*, 223 (1892); *16*, 916. Gorini, Kochs Jahresber. (1893), p. 290. Chem. Zentr. (1893), II, 457. Zentr. Bakt., II, *8*, 137 (1902); *16*, 236 (1905). A. C. Huysse, Chem. Zentr. (1894), II, 613. Kalischer, Arch. Hyg., *37*, 30. A. Loeb, Zentr. Bakt., I, *32*, 6 (1902). — 2) C. Gerber, Compt. rend., *149*, 944 (1909). Soc. biol., *67*, 612, 867 (1909); *68*, 201, 382 (1910). Labenzym in Polyporus squamosus: Buller, Ann. of Bot. (1906), p. 49. Coprinus: J. R. Weir, Flora, *103*, 270 (1911). — 3) H. Bruhne, Zopfs Beitr., *1*, 26 (1894). — 4) K. Saito, Bot. Mag. Tokyo, *17*, Nr. 201 (1903). — 5) R. Rapp, Zentr. Bakt., II, *9*, 625 (1902). — 6) M. Durandard, Compt. rend., *158*, 270 (1914). — 7) Vgl. hierzu: F. Hamburger, Arteigenheit und Assimilation. Leipzig u. Wien 1903. — 8) Zusamenfassung bei H. Lüthje, Ergebn. d. Physiol., *7*, 795 (1908). E. Abderhalden, Synthese der Zellbausteine bei Pflanzen und Tieren. Berlin 1912. E. Abderhalden, Ztsch. physiol. Chem., *64*, 158; *67*, 405 (1910); *77*, 22 (1912); *81*, 323 (1912).

stellung bedarf, inwieweit die Eiweißverwertung bei Darreichung arteigenen Eiweißes derjenigen überlegen ist, die bei Fütterung mit artfremdem pflanzlichen und tierischem Eiweiß möglich ist.

§ 2.

Die Produkte der bacteriellen Eiweißzersetzung. Eiweißfäulnis.

Schon in den älteren Arbeiten aus der umfangreichen Literatur (1) über die Produkte der bacteriellen Eiweißverarbeitung wurde mehrfach die Ähnlichkeit der hierbei entstehenden Stoffmischung mit der Zusammensetzung tryptischer Verdauungsgemische hervorgehoben (Koukol-Yasnopolski, Hoppe-Seyler, Kühne u. a. Forscher (2). In der Tat gehören Monaminosäuren, wie Leucin, Tyrosin, zu den häufigsten Produkten der bacteriellen Eiweißverarbeitung. Auch Albumosenbildung wurde wiederholt im Anfange des Prozesses konstatiert. Da nun Bacterien typische proteolytische und peptolytische Enzyme eigen sind, so darf berechtigterweise primär eine Aufspaltung der Eiweißsubstrate in Aminosäuren vorausgesetzt werden. Nach den Untersuchungen von Pick und Joachim (3) über die bacterielle Zersetzung von Blutserum scheint es, als ob nicht alle Proteinstoffe gleich schnell abgebaut würden, da die Euglobulinfraktion am raschesten verschwand. Nach Nawiasky (4) sind auch Albumosen und Peptone von verschiedenen Bacterienformen nicht gleich ausnutzbar.

Nun ist es gleichfalls eine alte und allgemein anzustellende Erfahrung, daß bei der Bacterienwirkung auf Proteine eine Reihe von Produkten auftritt, welche der tryptischen Verdauung sonst fehlen. Diese sind in erster Linie die Fäulnisgeruchstoffe, wie Indol und Scatol, Methylmercaptan, Schwefelwasserstoff, sodann Fettsäuren der Essigsäurereihe, endlich aromatische Säuren und Phenole. Man hat Grund anzunehmen, daß alle diese Stoffe sekundär aus den primär entstandenen Aminosäuren hervorgehen, teilweise unmittelbar nach deren Abspaltung, und daß bei allen diesen Veränderungen enzymatische Wirkungen im Spiele sind. Für die genaue Verfolgung dieser Vorgänge ist es natürlich unerläßlich an Stelle der fäulnisfähigen tierischen Organe, welche durch ihren Gehalt an Fetten, Lecithinen, Kohlenhydraten eine Zurückführung vieler Fäulnisprodukte auf die Eiweißstoffe vielfach sehr erschweren, reine Eiweißpräparate zu verwenden und auch Versuche mit reinen Aminosäuren vorzunehmen, um sicherzustellen, welchen Umsetzungen jede einzelne von diesen unterliegt. Daß man außerdem Reinkulturen bestimmter Mikroben anzuwenden hat, ist eine selbstverständliche Forderung der exakten Methodik.

Bei der Fleischfäulnis sind Bac. putrificus und proteus vulgaris entschieden die wichtigsten Formen (5). Über die Schnelligkeit des Vorganges gibt es eine Vorstellung, daß nach Bordas (6) 620 g Tierleichenteile

1) Vgl. Cohnheim, Eiweißstoffe, 3. Aufl. In historischer Hinsicht: Senebier, Physiol. végét., *5*, 22. M. Hahn u. A. Spieckermann, Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 85 (1904). G. Salus, Arch. Hyg., *51*, 97 (1904). A. Ellinger, Ergebn. d. Physiol., *6*, 29 (1907). P. Hirsch, Die Einwirkung von Mikroorganismen auf die Eiweißkörper. Berlin 1918. (Aus „Die Biochemie in Einzeldarstellung", Bornträgers Verlag.) — 2) Koukol-Yasnopolski, Pflüg. Arch., *12*, 78 (1875). F. Hoppe-Seyler, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 128 (1877). W. Kühne, Ztsch. Biol., *29*, 1 (1892). — 3) E. P. Pick u. J. Joachim, Wien. klin. Woch.schr. (1903), Nr. 50. — 4) Nawiasky, Arch. Hyg., *64*, 33 (1908). — 5) Vgl. A. Kossowicz, Wien. tierärztl. Mon.schr., *3*, 225 (1916). Ztsch. Fleisch- u. Milch.hyg., *27*, Heft 4 (1916). — 6) F. Bordas u. S. Bruère, Compt. rend., *161*, 34 (1915).

bei der Temperatur des künstlichen Düngers binnen 15—18 Tagen vollständig verflüssigt werden.

Soviel man sehen kann, stellen sich die charakteristischen chemischen Umsetzungen der Eiweißfäulnis am reichlichsten im anaeroben Leben ein (1), was auch für die Entwicklung der Fäulnisvorgänge im Darm gilt (2). Vielleicht sind aber auch die fleischbewohnenden aeroben Leuchtbacterien in gewissem Sinne den typischen Fäulnisorganismen ernährungsphysiologisch nahestehende Mikroben (3). Durch Zuckerzusatz kann man regelmäßig die Bildung der typischen Fäulnisprodukte verzögern (4). Bezüglich der allgemeinen physikochemischen Veränderungen, die in Faulflüssigkeiten stattfinden, hat POLIMANTI (5) Untersuchungen angestellt.

Wenn auch in bezug auf viele chemische Vorgänge bei der Eiweißfäulnis angesichts der bedeutenden Lücken in der experimentellen Bearbeitung Zurückhaltung in der Beurteilung am Platze ist, so läßt sich doch sagen, daß zahlreiche Prozesse, die zur Bildung der endgültigen Fäulnisprodukte führen, sich in die Kategorien der Hydrolyse, Ammoniakabspaltung, Kohlensäureabspaltung, Oxydations- und Reduktionsvorgänge bringen lassen, und daß viele dieser Umsetzungen enzymatischer Natur sind. Die enzymologische Technik ist jedoch auf dem Gebiete der Eiweißfäulnis noch wenig ausgebildet.

Ammoniakbildung aus Eiweiß ist ein allgemeiner und sehr wichtiger Prozeß der bacteriellen Eiweißzersetzung. Nach BERTHELOT und ANDRÉ (6) kann die Ammoniakentwicklung bis zu $^2/_3$ des ursprünglichen Eiweiß-N betragen. MARCHAL (7), dem wir eingehende vergleichende Untersuchungen über bacterielle NH_3-Abspaltung aus Eiweiß verdanken, fand Bac. mycoides besonders wirksam, der bis 46% Eiweiß-N in Ammoniak umwandelt. LIPMAN und BURGESS (8) fanden bei der Prüfung von Reinkulturen die Ammonisation durch Bac. tumescens am intensivsten. Wirksam sind u. a. Bac. fluorescens liquefaciens, mesentericus vulgatus und subtilis. Meist erscheinen 20—30% des Eiweiß-N als freies NH_3 wieder. Die Schnelligkeit der Ammonisation ist bei den einzelnen Proteinen verschieden (ROBINSON und TARTAR) (9); bei Casein ist der Prozeß in wenigen Tagen beendet, während Gliadin noch nach einem Monat NH_3 abspaltet. Für die biologisch so bedeutungsvolle Überführung des organischen Stickstoffes im Boden (10) in Ammoniak kommen besonders auch die Actinomycetenformen in Betracht. Streptothrix chromogenes und alba, die häufigsten Actinomycetenformen in Erde, sind bei Darreichung von Blutmehl oder Pepton kräftige Ammonisatoren (11); das gleiche gilt für Actinomyces odorifer

---

1) Vgl. L. F. RETTGER, Journ. biol. Chem., *2*, 71 (1906); *4*, 45 (1908); *13*, 341 (1912). — 2) Vgl. E. METCHNIKOFF, Compt. rend., *147*, 579 (1908). C. A. HERTER, Journ. biol. Chem., *2*, 1 (1907); A. KROGH, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 289 (1906). — 3) F. FUHRMANN, Die Naturwissenschaften, *2*, 232 (1914). — 4) H. KÜHL, Ztsch. öffentl. Chem., *19*, 103 (1913). — 5) O. POLIMANTI, Biochem. Ztsch., *11*, 260 (1908). — 6) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *114*, 514 (1892). Ann. Chim. et Phys., (6), *27*, 165. — 7) E. MARCHAL, Zentr. Bakt., II, *1*, 753 (1895). Rec. Inst. bot. Bruxelles, *2*, 61 (1906); ferner GAUTIER u. ETARD, Compt. rend., *97*, 263, 325 (1883). A. MAASSEN, Arb. Kaiserl. Ges.amt, *15*, 500 (1899). EMMERLING u. REISER, Ber. chem. Ges., *35*, 700 (1902). STOKLASA, Hofmeist. Beitr., *3*, 322 (1902). — 8) LIPMAN u. BURGESS, Univ. of Californ. Publ. Agr. Sci., *1*, 127 u. 141 (1914). — 9) ROBINSON u. TARTAR, Journ. Biol. Chem., *30*, 135 (1917). — 10) Hierzu: LÖHNIS u. GREEN, Zentr. Bakt., II, *37*, 534 (1913); *40*, 457 (1914); BECKWITH u. VASS, Ebenda, *42*, 69 (1914); SACKETT, Bull. Colorado Agr. Coll. 1912, p. 1; CHARDET, Rev. gén. Chim. pure et appl., *17*, 137 (1914); CUNNINGHAM, Zentr. Bakt., *42*, 8 (1914). K. SCHULZ, Diss. Jena 1913. — 11) A. FOUSEK, Mitteil. d. Hochschule f. Bodenkult. Wien (1912), I, 217. E. MACÉ, Compt. rend., *14*, 147 (1905).

und andere Formen, die nach MÜNTER (1) nicht den typischen Fäulnismikroben beizuzählen sind. Nach KENDALL (2) sind verschiedene Substrateinflüsse bei der Ammoniakbildung im Spiele, so daß man nicht darauf rechnen kann in allen Fällen durch Konzentrationssteigerung der Nähreiweißlösung auch die Ammoniakbildung zu erhöhen. Wichtig sind die Erfahrungen von LIPMAN (3) über den antagonistischen Einfluß von ein- und zweiwertigen Kationen auf die Ammoniakbildung durch subtilis, die ganz den sonst gefundenen Ionenantagonismen entsprechen. Es besteht eine antagonistische Wirkung von Ca und K; die Hemmung durch Ca oder Mg ist bedeutend stärker als jene durch K oder Na. Der sog. Kalkfaktor Ca/Mg scheint nicht von Belang zu sein (4). Von den Anionen war der Antagonismus zwischen SO_4 und CO_3 am bedeutendsten. Daß diese Verhältnisse für die Beurteilung der Umsetzungen im Boden von Bedeutung sind, ist zweifellos. Nach GREAVES (5) kann man durch kleine Arsengaben die Ammonisation im Boden stimulieren. Cu, Zn, Fe und Pb-Salze scheinen auf die Ammonisation keinen stimulierenden Einfluß zu haben (6).

Allgemein wurde beobachtet, daß der Zuckergehalt des Substrates die Ammoniakbildung aus Eiweiß erheblich hemmend beeinflußt. Bei Bac. alcaligenes geht nach BOEHNKE (7) die Hemmung so weit, daß schon 1% Zuckerzusatz die NH_3-Produktion auf ⅓ vermindert. Dies kann nur so erklärt werden, daß die Bacterien N-freie Spaltstücke des Eiweiß bei der Synthese des Zuckers aus Fettsäuren brauchen, und daß daher ein erheblicher Teil des abgespaltenen NH_3 Monamino-N sein muß, womit auch die große Menge des produzierten NH_3 übereinstimmt. Da außerdem der Amid-N des Eiweiß abgespalten wird, so bestehen für das entwickelte NH_3 zunächst zwei Quellen: die Amidogruppen und die Monaminosäuren. Für die Abspaltung des Amid-N kommen fraglos die anderwärts nachgewiesenen Desamidasen als wirksame Fermente in Betracht (8). Für Bac. pyocyaneus haben bereits ARNAUD und CHARRIN (9) die Zerlegung von Asparagin in NH_3 und Aminobernsteinsäure gezeigt, und die fermentative Natur dieses Vorganges in Betracht gezogen. Wie TAKEUCHI und INOUYE (10) für die Desamidase aus Seidenraupen gezeigt haben, wirken diese Enzyme auf Monaminosäuren kaum ein, so daß die Abspaltung des Monamino-N auf andere Weise geschehen muß. Gewisse Anhaltspunkte dafür, daß auch da enzymatische Spaltungen anzunehmen sind, haben Erfahrungen von BERGHAUS (11) über NH_3-Entwicklung durch abgetötete Bacterien geliefert, doch sind die Kenntnisse über solche Vorgänge äußerst dürftig. Jedenfalls bleibt es meist nicht bei der Bildung von Ammoniak unter ein-

1) F. MÜNTER, Zentr. Bakt., II, *39*, 561 (1914). — 2) A. J. KENDALL, DAY u. WALKER, Journ. Med. Res., *28*, 465 (1913). Journ. Infect. Diseas., *13*, 425 (1913). — 3) C. B. LIPMAN, Botan. Gaz., *48*, 105 (1909); Zentr. Bakt., II, *32*, 58 (1911); *36*, 382 (1913); *42*, 67 (1914). — 4) W. P. KELLEY, Zentr. Bakt., *42*, 519 (1914). — 5) J. E. GREAVES, Ebenda, *39*, 542 (1913). Biochem. Bull., *3*, 2 (1913). — Über die Ammonisation im Boden vgl. noch STEVENS, WITHERS, TEMPLE u. SYME, Zentr. Bakt., II, *23*, 776 (1909). J. G. LIPMAN, BROWN u. OWEN, Ebenda, *30*, 156 (1911); *31*, 49 (1911). W. G. SACKETT, Ebenda, *40*, 168 (1914). — 6) LIPMAN u. BURGESS, Univ. Californ. Publ. Agr. Sci. *1*, 127 u. 141 (1914) — 7) K. E. BOEHNKE, Ztsch. Hyg., *74*, 81 (1912). AUBEL u. COLIN, Compt. rend. Soc. Biol., *76*, 835 (1914). WAKSMAN, Journ. Amer. Chem. Soc. *39*, 1503 (1917). — 8) Für Pankreas: STADELMANN, Ztsch. Biol., *24*, 261. Leber: JACOBY, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 149 (1900). Auch M. GONNERMANN, Pflüg. Arch., *89*, 493 (1902); *103*, 225, 255 (1904). R. O. HERZOG, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 391 (1902). Kritik bei K. SCHWEIZER, Biochem. Ztsch., *78*, 37 (1916). Diss. Genf 1916. — 9) A. ARNAUD u. A. CHARRIN, Compt. rend., *112*, 755, 1157 (1891). O. SEMAL, Kochs Jahresber., *9*, 205 (1898). — 10) J. TAKEUCHI u. R. INOUYE, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 15 (1909). Fliegenlarven: E. WEINLAND, Ztsch. Biol., *47*, 232 (1905). — 11) BERGHAUS, Arch. Hyg., *64*, 1 (1908).

facher Desamidierung, so daß Oxysäuren entstehen, sondern der Prozeß geht unter Reduktion weiter bis zu den entsprechenden Fettsäuren der Essigsäurereihe. So entstehen Essigsäure, Propionsäure, Isovaleriansäure, Isocapronsäure. Bei der Spaltung von Valin und Isoleucin in reinem Zustande wurden von NEUBERG (**1**) in der Tat die entsprechenden optisch aktiven Fettsäuren durch Fäulnisbacterien erhalten. Es ist möglich, wie NEUBERG (**2**) meint, daß diese optisch aktiven Fettsäuren bis zu Kohlenwasserstoffen in anaerober Fäulnis reduziert werden, und daß dieselben bei den Veränderungen in Tierresten schließlich zur Bildung der im Petroleum vorkommenden optisch aktiven Stoffe Anlaß geben. Andererseits wird allerdings daran gedacht, daß das Erdöl die optische Aktivität den Phytosterinen und tierischen Cholesterinen verdankt (**3**). Bei den zweibasischen Aminosäuren: Asparaginsäure und Glutaminsäure, tritt außer der erwähnten reduktiven Desamidierung noch Kohlensäureabspaltung ein, so daß aus Asparaginsäure nicht allein Bernsteinsäure, sondern auch Propionsäure regelmäßig hervorgeht (**4**), aus Glutaminsäure in analoger Weise Glutarsäure und n-Buttersäure (**5**). Bei der Spaltung von Glucosamin wurde Propionsäure und d-Milchsäure gefunden (**6**), so daß man eine Zerlegung in zwei dreigliedrige C-Ketten annehmen muß; doch ist dieser Abbau noch wenig bekannt. Die von EFFRONT (**7**) für Buttersäuregärungsbacterien, sowie Bac. bulgaricus gewonnenen Ergebnisse, jene von NAWIASKY (**8**) für Proteus vulgaris, und andere Literaturangaben lassen sich durch diese Grundsätze gut verständlich machen (**9**). Nicht ausgeschlossen ist es, daß manche aus Eiweiß hervorgegangenen Aminosäuren selbst eine hydrolytische Wirkung auf Alkoholfettsäureester haben (**10**).

An der Säurebildung im Substrate, vor allem im Boden, dürften die Eiweißzersetzungsprozesse einen viel geringeren Anteil haben als die Kohlenhydratverarbeitung (**11**). Unklar ist bezüglich der Entstehung die von BRÉAUDAT für einen Bac. violarius acetonicus angegebene Bildung von Aceton auf Peptonnährböden, gegen deren Natur als Eiweißspaltungsvorgang der Umstand spricht, daß Zucker diese Acetonbildung fördert (**12**). Schließ-

---

1) C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *7*, 178 (1907); *18*, 435 (1909); *37*, 501 (1911). — **2**) C. NEUBERG, Ebenda, *1*, 368 (1906); *7*, 199 (1907). Auch die Bildung von Methylalkohol wurde auf Glykokoll zurückgeführt: HART u. LAMB, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 2114 (1914). — **3**) A. A. RAKUSIN, Chem.-Ztg., *30*, 1041 (1906). G. KRAEMER, Ebenda, *31*, 675 (1907). C. ENGLER, Ztsch. angew. Chem., *21*, 1585 (1908); *25*, 153 (1912). A. KÜNKLER, Seifensiederztg., *37*, 291 (1910). C. ENGLER, Petroleum, *7*, 399 (1912). — **4**) C. NEUBERG, Archiv. di Fisiol., *7*, 87 (1910); Biochem. Ztsch., *18*, 424 (1909). W. BRASCH, Ebenda, *22*, 403 (1909); L. BORCHARDT, Ztsch. physiol. Chem., *59*, 96 (1909); T. CARLSON, Meddel. Vet.skap. Nobel-Inst., *2*, 1 (1912). Desamidierung von Asparagin: BLANCHETIÈRE, Ann. Inst. Pasteur, *31*, 291 (1917); Compt. rend., *163*, 206 (1916). — **5**) W. BRASCH u. C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *13*, 299 (1908); BRASCH, Ebenda, *18*, 380 (1909). NEUBERG, Ebenda, p. 431 (1909); L. BORCHARDT, l. c. ABDERHALDEN u. KAUTZSCH, Ztsch. physiol. Chem., *81*, 294 (1912). — **6**) E. ABDERHALDEN u. A. FODOR, Ztsch. physiol. Chem., *87*, 214 (1913). K. MEYER, Biochem. Ztsch., *57*, 297 (1913). — **7**) J. EFFRONT, Compt. rend., *148*, 238 (1909); *151*, 1007 (1910). — **8**) P. NAWIASKY, Arch. Hyg., *46*, 209 (1908). — **9**) Vgl. auch A. HOROWITZ-VLASSOVA, Arch. Sci. Biol., *15*, 40 u. 428 (1911). F. BLUMENTHAL, Virch. Arch., *137*, 539. NENCKI, Monatsh. Chem., *10*, 506 (1889). IWANOW, Ann. Inst. Pasteur, *6*, 131 (1892). H. SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *16*, 1191; GABRIEL u. ASCHAN, Ebenda, *24*, 1364 (1891). O. EMMERLING, Ebenda, *29*, 2721 (1896); *30*, 1863 (1897). J. STOLNIKOFF, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 345 (1877). WURTZ, Ann. Chim. et Phys., (3), *11*, 253 (1844). Allgemeines bei O. NEUBAUER in Abderhaldens Biochem. Handlex., *4*, 360 (1911). — **10**) Vgl. K. GEO. FALK u. J. M. NELSON, Journ. Am. Chem. Soc., *34*, 828 (1912). — **11**) Vgl. R. EMMERICH, GRAF ZU LEININGEN u. O. LOEW, Zentr. Bakt., II, *29*, 668 (1911). GORINI, Ebenda, *16*, 236 (1905). — **12**) L. BRÉAUDAT, Compt. rend., *142*, 1280 (1906). Ann. Pasteur, *20*, 874 (1906).

lich wäre auf die Leichenwachsbildung (Adipocire) hinzuweisen, für die der Zusammenhang mit Fetten oder Eiweiß durchaus fraglich ist (**1**).

Sehr interessant ist die von EMERSON (**2**) entdeckte Tatsache, daß Bac. pyocyaneus (besonders bei saurer Reaktion) Eiweiß unter Bildung von Blausäure verarbeitet. Näheres über diese Vorgänge ist nicht sichergestellt.

Daß bei Eiweißfäulnis Entbindung von freiem Stickstoff eintritt, ist bis zur neuesten Zeit immer wieder behauptet worden (**3**), doch hat KROGH (**4**) für die Darmfäulnis in einer kritischen Arbeit die Unwahrscheinlichkeit dieser Annahme gezeigt.

Für den Nachweis von Ammoniak in sehr geringen Mengen kommt noch immer in erster Linie die NESSLERsche Probe in Betracht (**5**). Nach TRILLAT und TURCHET (**6**) lassen sich Spuren von Ammoniak scharf durch den schwarzen Niederschlag von Jodstickstoff nachweisen, der bei Versetzen mit Kaliumjodid und Alkalihypochlorit entsteht. Eine weitere Reaktion ist die mit Phenol und NaOCl eintretende Blaufärbung (**7**).

Besondere Beachtung verdienen die phenylierten Monaminosäuren wegen des Schicksales der Phenylgruppen. Wie BAUMANN (**8**) gezeigt hat, verdanken die bei Eiweißfäulnis auftretenden verschiedenen aromatischen Säuren und Phenole ihren Ursprung vor allem dem Tyrosinkern des Eiweiß. So wie Alanin durch reduktive Desamidierung in Propionsäure übergeht, so liefert Tyrosin p-Oxyphenylpropionsäure oder p-Hydrocumarsäure $4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$. Ganz entsprechend ergibt Phenylalanin die Phenylpropionsäure (**9**). Eine weitere aromatische Säure, die bei der Fäulnis offenbar dem Tyrosin entstammen muß, ist die von BAUMANN nachgewiesene p-Oxyphenylessigsäure. Ihre Entstehung kann man so deuten, daß zunächst aus der p-Oxyphenylpropionsäure unter CO_2-Abspaltung p-Oxyäthylphenol hervorgeht, und dieses durch Oxydation die p-Oxyphenylessigsäure liefert:

$4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$ gibt CO_2 und $4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_3$, welches allerdings als Fäulnisprodukt noch nicht nachgewiesen worden ist;

$$4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot C_2H_5 + 3O \text{ gibt } 4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot COOH + H_2O.$$

Aus der letzteren entsteht durch CO_2-Abspaltung p-Kresol:

$$4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 . COOH = CO_2 + 4,\text{-}(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_3.$$

Um endlich zu dem gleichfalls als Fäulnisprodukt auftretenden Phenol zu gelangen, haben BAUMANN und NENCKI angenommen, daß zunächst p-Oxybenzoesäure entsteht, welche zu Phenol und H_2O zerfällt. Gegen diese Vorstellung spricht der Umstand, daß p-Oxybenzoesäure bisher als Fäulnisprodukt nicht bekannt ist. Den Nachweis der Phenylpropionsäure und Phenylessigsäure, die sich vom Phenylalanin ableiten, erbrachte SALKOWSKI (**10**). Daß das Phenolgemisch bei Eiweißfäulnis besonders aus

1) A. CEVIDALLI, Viertelj.schr. gerichtl. Med., *32*, 219 (1906). — **2**) H. W. EMERSON, CADY u. BAILEY, Journ. biol. Chem., *15*, 415 (1913). B. J. CLAWSON u. C. YOUNG, Ebenda, 419. — **3**) EHRENBERG, Zentr. Bakt., *15*, 154 (1905). — **4**) A. KROGH, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 289 (1906). — **5**) Hierzu: FR. TETZEL, Pharm. Ztg., *54*, 568 (1909). ROSE u. COLEMAN, Biochem. Bull., *3*, 407 (1914); GRAVES, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1171 (1915); E. BERNARD, Landw. Vers.stat., *86*, 331 (1915). — **6**) TRILLAT u. TURCHET, Bull. Soc. Chim., *33*, 304 (1905). — **7**) P. THOMAS, Ebenda, *11*, 796 (1912). Zur quantitativen Bestimmung: R. O. E. DAVIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *31*, 556 (1909). — **8**) BAUMANN, Ber. chem. Ges., *12*, 1450 (1879). — Synthese der p-Oxyphenylaminoessigsäure: J. ALOY u. CH. RABANT, Bull. Soc. Chim. (4), *7*, 516 (1910). Synthese von Phenylfettsäuren: F. MAUTHNER, Lieb. Ann., *370*, 368 (1909). — **9**) SELITRENNY, Monatsh. Chem., *10*, 908 (1889). Zur Stereochemie des bacteriellen Tyrosinabbaues: SASAKI u. ICHIRO, Journ., Biol. Chem., *32*, 533. — **10**) E. u. H. SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *12*, 648 (1879). Ztsch. physiol. Chem., *9*, 491. NENCKI, l. c. KERRY, Monatsh. Chem., *10*, 864.

p-Kresol und etwas Phenol besteht, zeigten BAUMANN und BRIEGER (**1**). Nach BERTHELOT (**2**) zeichnet sich der Bac. phenologenes, aus Darminhalt gezüchtet, durch besonders reichliche Phenolbildung aus Tyrosin aus. Bacterien verarbeiten Tyrosin auch als einzige Stickstoffquelle (**3**). BRASCH (**4**) wies bei Bac. putrificus p-Oxyphenylpropionsäure als Stoffwechselprodukt nach. Für eine Mikrobe aus der Pyocyaneusgruppe aus Stallmist zeigte TRAETTA-MOSCA (**5**) die Entstehung von Hydrocumarsäure, Benzoesäure und Benzol aus Tyrosin. Auf die oxydative Weiterveränderung des desamidierten Tyrosins soll hier nicht mehr eingegangen werden. Dies ist das Gebiet der Tyrosinasewirkung. BEIJERINCK (**6**) nimmt übrigens an, daß es sich bei Bacterien um die Wirkung zweier Enzyme handelt: um die Bildung von Homogentisinsäure als Chromogen, dann um die Entstehung der dunklen Pigmente daraus.

Tyrosin und Phenylalanin sind weiter das erste Beispiel dafür, wie aus Aminosäuren ohne Abspaltung des NH_3 durch CO_2-Abspaltung Basen in der Fäulnis entstehen (**7**). Tyrosin liefert auf diese Art p-Oxyphenyläthylamin 4,-$(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$ (**8**), während aus Phenylalanin analog Phenyläthylamin $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$ hervorgeht. BERTHELOT (**9**) wies nach, daß bestimmte Darmbacterien in dieser Richtung auf Tyrosin wirksam sind. Außer diesem zur Gruppe des FRIEDLÄNDERschen Pneumoniebacillus gehörenden Bac. aminophilus intestinalis ist Bac. coli nach SASAKI ebenso auf Tyrosin wirksam (**10**).

Die gleiche Aminbildung betrifft nach allem auch die aliphatischen Aminosäuren, da man Methylamin, Isobutylamin und Isoamylamin bei der Fäulnis gefunden hat, die durch CO_2-Abspaltung aus Glykokoll bzw. Valin und Leucin entstehen können. Aus Serin wird durch Fäulnisbacterien Aminoäthylalkohol gebildet (**11**). Aus Glutaminsäure entsteht γ-Aminobuttersäure.

Der Abbau des Tryptophans reiht sich völlig an jenen des Tyrosins an. Nachdem BAUMANN (**12**) erkannt hatte, daß die Indolbildung bei der Fäulnis mit den Tyrosingruppen nicht zusammenhängen kann, wies SALKOWSKI (**13**) nach, daß auch Scatolcarbonsäure bei Eiweißfäulnis vorzukommen pflegt. NENCKI und SALKOWSKI (**14**) zeigten, daß sich auch Scatolessigsäure unter den Fäulnisprodukten findet. Damit fällt die von HOPKINS und COLE (**15**)

---

1) BAUMANN u. BRIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *3*, 134 u. 149 (1879). Ber. chem. Ges., *12*, 705 u. 2166. Phenolbildung durch Coli: K. DOBROWOLSKI, Ann. Inst. Pasteur, *24*, 595 (1910). — **2**) A. BERTHELOT, Compt. rend., *164*, 196 (1917). — **3**) BERTHELOT u. BERTRAND, Soc. Biol., *71*, 232 (1911). — **4**) W. BRASCH, Biochem. Ztsch., *22*, 403 (1909). — **5**) F. TRAETTA-MOSCA, Gazz. chim. ital., *40*, I, 86 (1910). — **6**) BEIJERINCK, Akad. Amsterdam 1913, p. 923. — **7**) Darstellung solcher Amine: G. BARGER, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *8*, 261 (1914). The simpler natural bases. London 1914 (Monographs of Biochem.) ZEMPLEN u. FUCHS, Abderhaldens biochem. Handlex., *9*, 201 (1915). J. ABELIN, Naturwiss., *5*, 186 (1917). Biolog. Nachweis durch die Wirkung auf glatte Muskulatur: GUGGENHEIM u. LÖFFLER, Biochem. Ztsch., *72*, 303 (1916). — **8**) In Käse gefunden: F. EHRLICH u. LANGE, Biochem. Ztsch., *63*, 156 (1914). — **9**) A. BERTHELOT u. BERTRAND, Compt. rend., *154*, 1826 (1912). Soc. biol., *71*, 232 (1911). Bacterien aus Dorschleber: A. GAUTIER, Bull. Soc. Chim. (3), *35*, 1195 (1906). — **10**) T. SASAKI, Biochem. Ztsch., *59*, 429 (1914). — **11**) F. NORD, Biochem. Ztsch., *95*, 281 (1919). **12**) BAUMANN, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 60 (1877). Scatol: NENCKI, Ebenda, *4*, 371 (1880). BRIEGER, Ber. chem. Ges., *10*, 1027 (1877). — **13**) SALKOWSKI, Ber. chem. Ges., *13*, 2217 (1880). Ztsch. physiol. Chem., *8*, 416; *9*, 8 (1885). — **14**) NENCKI, Monatsh. Chem., *10*, 506 (1889). SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *27*, 302 (1899). — **15**) F. G. HOPKINS u. S. W. COLE, Journ. of Physiol., *29*, 451 (1903).

konstatierte Indolpropionsäure zusammen, und so haben wir alle Stufen des Tryptophanabbaues beisammen:

Tryptophan: $COOH \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot C\left\langle {C_6H_4 \atop CH} \right\rangle NH$

Indolpropionsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot C\left\langle {C_6H_4 \atop CH} \right\rangle NH$

Indolessigsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot C\left\langle {C_6H_4 \atop CH} \right\rangle NH$ (Scatolcarbonsäure)

Scatol oder β-Methylindol: $CH_3 \cdot C\left\langle {C_6H_4 \atop CH} \right\rangle NH$

Indol: $HC\left\langle {C_6H_4 \atop CH} \right\rangle NH$

Die Bildung eines Amins aus Tryptophan durch CO_2-Abspaltung kennt man nicht. Daß das aus dem Eiweiß gebildete Tryptophan eine Vorstufe der Indolbildung darstellt, wurde im Sinne einer von NENCKI geäußerten Vermutung (1889) durch ELLINGER und GENTZEN 1903 (**1**) außer Zweifel gestellt. Da man nicht allgemein in Bacterienkulturen die Tryptophanreaction erhält (**2**), so dürfte die Weiterverarbeitung oft sehr rasch geschehen. Ein Zusammenhang mit Chinolinderivaten im Stoffwechsel, wie er sich anderenorts ergeben hat, kennt man von der bacteriellen Tryptophanverarbeitung nicht (**3**).

Indol, weniger Scatol, ist das häufigste Produkt des Tryptophans bei der bacteriellen Eiweißfäulnis. SELTER (**4**) fand als beste Bedingung für die reichliche Indolbildung Darreichung einer 10%igen Peptonlösung mit Zusatz von 0,5 Na_2HPO_4 und 0,1 $MgSO_4$. Ein Verzeichnis zahlreicher Indol bildender Bacterien findet man bei LEWANDOWSKI (**5**); erwähnt sei die Indolbildung durch Choleravibrionen (**6**), Tetanusbacillus (**7**), Bac. pyocyaneus (**8**), bei Darmbacterien (**9**), besonders durch Bac. coli (**10**), und durch Proteus vulgaris (**11**). Von Proteus kennt man aber eine nicht Indol bildende Rasse, Bact. anindologenes (**12**). Actinomyceten bilden kein Indol (**13**).

Zuckergegenwart, besonders Dextrose, pflegt die Indolbildung ausgesprochen zu hemmen, in Übereinstimmung mit anderen Erfahrungen über den bacteriellen Eiweißzerfall (**14**). Nur dann fehlt dieser hemmende Einfluß, wenn die betreffenden Bacterien den dargereichten Zucker nicht anzugreifen vermögen. Bei Darreichung von Pepton ist übrigens nicht zu vergessen, daß die Indolmenge einerseits vom Verbrauch und Nichtverbrauch des Tryptophans abhängen muß; je weniger Pepton zur Verfügung steht, desto mehr Tryptophan fällt relativ der Indolbildung anheim. Auch Indol

---

1) ELLINGER u. GENTZEN, Hofmeist. Beitr., *4*, 171 (1903). — **2**) Vgl. L. BANSPACH, Diss. Stuttgart 1912. — **3**) Überführung von Tetrahydrochinolin in Scatol: M. PADOA u. SCAGLIARINI, Atti Acc. Linc. Rom. (5), *17*, I, 728. — **4**) SELTER, Zentr. Bakt., I, *51*, 465 (1909). Auch J. MENDEL, Ebenda, II, *29*, 290 (1911). — **5**) A. LEWANDOWSKI, Deutsche med. Woch.schr. (1890), p. 1186. — **6**) Hierzu: L. MAZZETTI, Zentr. Bakt., I, *68*, 129 (1913). BAUMGARTEN u. NOTHMANN, Mediz. Feldbl. d. X. Armee 1916, Nr. 4. — **7**) KITASATO u. WEYL, Ztsch. Hyg., *8*, 404 (1890). — **8**) M. JAKOWSKI, Ebenda, *15*, 474 (1893). — **9**) ZUMFT, Kochs Jahresber. (1892), p. 238; A. BERTHELOT u. M. BERTRAND, Soc. Biol., *71*, 232 (1911). — **10**) F. RETTGER, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 466. — **11**) F. KUHN, Arch. Hyg., *13*, 40 (1891). BERTHELOT, Compt. rend., *156*, 641 (1913). — **12**) J. VAN LOGHEM, Fol. microbiol., *3*, H. 3 (1915). — **13**) Vgl. E. MACÉ, Compt. rend., *141*, 147 (1905). — **14**) Vgl. HIRSCHLER, Ztsch. physiol. Chem., *10*, 306 (1886). K. GORINI, Zentr. Bakt., *13*, 790 (1893). S. SIMNITZKI, Ztsch. physiol. Chem., *39*, 99 (1903). W. C. DE GRAAFF, Zentr. Bakt., I, *49*, 175 (1909). A. DISTASO, Soc. Biol., *75*, 200 (1913). A. FISCHER, Biochem. Ztsch., *70*, 105 (1915).

selbst wird von manchen Bacterien weiter verarbeitet (**1**). Dem Sauerstoffzutritt kommt für die Indolbildung kein allgemeiner Einfluß zu, wenn auch in manchen Fällen Unterschiede bei Sauerstoffabschluß und Zutritt zu erkennen waren (**2**). Die einzelnen Eiweißkörper bilden, wie zu erwarten, ungleich viel Indol. Fibrin liefert sehr viel Indol. Casein spaltet Proteosen ab, die mehr Indol liefern als der zurückbleibende Spaltungsanteil (**3**).

Die Untersuchung der bacteriellen Stoffwechselprodukte auf Indol hat aus manchen Gründen viel Interesse erweckt. Man gewinnt Indol und Scatol aus dem angesäuerten Fäulnisgemisch durch Ausschütteln mit Äther. SALKOWSKI erhielt so 1,7—3,2 pro Mille Ausbeute. Indol und Scatol lassen sich nach BAEYER (**4**) durch Destillation der Pikrate mit Natronlauge trennen. Indol, Scatol und die Carbonsäuren geben mit salpetriger Säure die BAEYERsche Indolreaktion: Rotfärbung, eventuell Fällung. Namentlich in Kombination mit Chloroformausschüttelung wird diese Probe sehr empfindlich. Die Cholerarotreaktion von BRIEGER (**5**) ist mit der Indolprobe identisch, nachdem viele Bacterien, darunter der Choleraerreger, gleichzeitig Indol und Nitrit bilden. Indol gibt sodann die LEGALsche Probe: Violettfärbung mit Nitroprussidnatrium mit etwas NaOH. Für den Nachweis in Bacterienkulturflüssigkeit ist vor allem die Rotfärbung mit dem EHRLICHschen Reagens und HCl geeignet. Eine 2%ige alkoholische Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd wird etwa zu ½ Volumen der Probe zugefügt und sodann langsam 25% HCl zugesetzt. Diese Probe gestattet auch colorimetrische Anwendung (**6**). Besser ist es, die Probe mit der Kulturflüssigkeit nicht direkt anzustellen, sondern den Ätherextrakt der Kulturflüssigkeit zu prüfen. An Stelle des EHRLICHschen Aldehyds kann man auch andere Aldehyde zu Farbenreaktionen auf Indol verwenden, so Glyoxylsäure (**7**), Vanillin (**8**).

Nach SASAKI (**9**) soll Scatol bei der Schichtprobe mit Schwefelsäure und Methylalkohol eine violette Reaktion zeigen, welche Indol und Tryptophan nicht geben. Scatol wird in Bouillonkulturen nach HERTER und FOSTER (**10**) nur durch wenige Bacterien erzeugt.

Im Gegensatze zum Benzolring ist der Pyrrolidinring in Prolin bei der bacteriellen Eiweißverarbeitung leicht aufspaltbar, und so gibt Prolin zunächst δ-Aminovaleriansäure, aus der durch reduktive Desamidierung weiter n-Valeriansäure entsteht (**11**).

H_2C——CH_2 / H_2C CH—$COOH$ / NH (ringförmig) → H_2C——CH_2 / H_2C CH_2—$COOH$ / NH_2 → H_2C——CH_2 / H_3C CH_2—$COOH$

1) Vgl. HERZFELD u. KLINGER, Zentr. Bakt., I, *76*, 1 (1915). — **2**) Vgl. BIENSTOCK, Arch. Hyg., *39*, 390 (1900). Ann. Inst. Pasteur, *13*, 854 (1899). — **3**) Vgl. MORACZEWSKI, Biochem. Ztsch., *70*, 37 (1915). — **4**) BAEYER, Ber. chem. Ges., *13*, 2339. Zur Indolreaktion auch LUNKEWICZ, Zentr. Bakt., *16*, 945 (1894). — **5**) BRIEGER, Berlin. klin. Woch.schr. (1888), Nr. 44. — **6**) Vgl. E. CROSSONINI, Arch. Hyg., *72*, 160 (1910). A. SICRE, Soc. Biol., *67*, 76 (1909); CH. PORCHET u. L. PANISSET. Ebenda, *68*, 653 (1910); G. HAENEN, Arch. internat. Pharmakodyn., *15*, 255 (1906). — **7**) H. D. DAKIN, Journ. biol. Chem., *2*, 289 (1907). E. GRANSTRÖM, Hofmeist. Beitr., *11*, 132 (1907). Damit wird wohl auch die von MORELLI, Gazz. med. ital., *60*, No. 14 erwähnte Probe mit Oxalsäure zusammenfallen. Vgl. auch THÖNI u. GEILINGER, Mitt. Leb.mitt.unt. u. Hyg., *8*, 65 (1917). — **8**) G. BUARD, Soc. Biol., *65*, 158 (1908). Zum Indolnachweis auch H. MOLISCH, Mikrochem. d. Pfl. Jena 1913, p. 214. — **9**) T. SASAKI, Biochem. Ztsch., *23*, 402 (1910). — **10**) C. A. HERTER u. M. L. FOSTER, Journ. biol. Chem., *2*, 267 (1907). — **11**) D. ACKERMANN, Ztsch. Biol., *57*, 104 (1911). C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *37*, 490 (1911).

Die Diaminosäuren des Eiweiß sind von besonderer Wichtigkeit für die Entstehung der sogenannten Fäulnisbasen. Bemerkenswerterweise findet wenigstens bei Lysin keine weitere Veränderung statt als CO_2-Abspaltung, wodurch das Cadaverin oder Pentamethylendiamin $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$ hervorgeht, dessen Konstitution LADENBURG (1) festgestellt hat. ELLINGER (2) zeigte die Entstehung dieser Base durch CO_2-Abspaltung aus der α, ε-Diaminocapronsäure oder Lysin. YOSHIMURA isolierte die Base auch aus faulender Soja (3). Bei der Fäulnis des lysinfreien Gliadins fehlt das Pentamethylendiamin (4). Nach ACKERMANN (5) soll die Spaltung reinen Lysins durch Bacterien nicht in dem Maße erfolgen, wie in Gemischen der Eiweißhydratationsprodukte. Möglicherweise stehen noch andere Fäulnisbasen zum Lysin in Beziehung. ACKERMANN (6) vermutet, daß das von BRIEGER (7) beschriebene Mydatoxin $C_6H_{13}NO_2$ mit der ε-Aminocapronsäure identisch ist. Bezüglich des Mydin $C_8H_{11}NO$, Saprin $C_5H_{14}N_2$, dem Sardinin (8) sowie des von ACKERMANN (9) angegebenen Marcitin $C_8H_{19}N_3$ und Putrin $C_{11}H_{26}N_2O_3$ läßt sich, wie bezüglich anderer sonst beschriebener Fäulnisbasen, noch nichts über die Herkunft sagen. Überdies scheint die Entstehung mancher derartiger Stoffe, wie des Sepsins, auf bestimmte Organismen beschränkt zu sein (10), so daß eine einfache Entstehung solcher Stoffe aus Eiweiß nicht recht wahrscheinlich ist.

Hinsichtlich der CO_2-Abspaltung bei der bacteriellen Eiweißzersetzung sei bemerkt, daß nach NENCKI und SIEBER (11) nicht weniger als 97% aller entwickelten Gase CO_2 ist. EMMERLING (12) fand bei der Fäulnis von Weizenkleber durch Proteus vulgaris 46% CO_2 in dem entwickelten Gasgemisch.

Das Arginin läßt, vermöge seines Aufbaues, eine Reihe interessanter Spaltungen bei der bacteriellen Verarbeitung erwarten. Zunächst hat man die Bildung von Harnstoff und Ornithin oder α, δ-Diaminovaleriansäure zu erwarten. WINTERSTEIN (13) hat beide Körper in Emmentaler Käse nachgewiesen. Beide werden rasch weiter verändert. Ornithin liefert eine Reihe von charakteristischen Fäulnisprodukten. Durch CO_2-Abspaltung geht es in Putrescin oder Tetramethylendiamin über, dessen chemische Natur UDRANSZKY (14) erkannte: $NH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$. Dasselbe wird regelmäßig in Gemeinschaft mit Cadaverin angetroffen. Von dem Putrescin scheint sich nach den Untersuchungen von FAUST (15) das erwähnte Sepsin, das man aus faulender Hefe erhalten hat, abzuleiten. Dieser gut krystallisierende Salze bildende Stoff ist sehr wahrscheinlich identisch mit

---

1) A. LADENBURG, Ber. chem. Ges., *19*, 2585 (1886). — 2) A. ELLINGER, Ber. chem. Ges., *31*, 3183 (1898); *32*, 3542 (1899). Ztsch. physiol. Chem., *65*, 394 (1910). Isolierung: D. ACKERMANN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 1002 (1910). Überführung von Piperidin in Pentamethylendiamin: J. v. BRAUN, Ber. chem. Ges., *37*, 3583 (1904). Über das dem Piperidin sehr ähnliche Hexamethylenimin vgl. J. v. BRAUN, Naturforsch. Ges., 1905, II, *1*, 74. — 3) K. YOSHIMURA, Biochem. Ztsch., *28*, 16 (1910). — 4) D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *64*, 91 (1910). ABDERHALDEN u. O. EMMERLING, Ebenda, *51*, 394 (1906). — 5) D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 482 (1909). — 6) D. ACKERMANN, Ebenda, *60*, 482 (1909). — 7) L. BRIEGER, Ber. chem. Ges., *16*, 515, 1186, 1405 (1883); *17*, 1137; *19*, 3119 (1886). Weitere Untersuch. über Ptomaine (1885). — 8) GRIFFITHS Chem. News, *68*, 45. Compt. rend., *115*, 418. — 9) D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 1 (1907). Viridinin: Ebenda, *57*, 28 (1908). — 10) Sepsin: W. FORNET u. W. HEUBNER, Arch. exp. Pathol. u. Pharm., *56*, 176 (1908). — 11) NENCKI u. SIEBER, Monatsh. Chem., *10*, 526 (1889). — 12) O. EMMERLING, Ber. chem. Ges., *29*, 2721 (1896). CO_2bildung bei Fäulnis stellte schon MAUNERS, Ann. de Chim., *92*, 160 (1814) fest. — 13) E. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 25 (1919). — 14) UDRANSKY u. BAUMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 2938 (1888). — 15) E. S. FAUST, Arch. exp. Pathol., *51*, 248 (1904). Früher: E. BERGMANN u. O. SCHMIEDEBERG, Zentr. med. Wiss. (1868), 114. CH. GRAM, Arch. exp. Pathol., *20*, 116 (1886).

dem Dioxydiamin der Form $CH_2NH_2 \cdot (CHOH)_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2$. Andererseits hat ACKERMANN (1) gezeigt, daß das Putridin oder δ-Aminovaleriansäure als partielles Desamidierungsprodukt von Ornithin anzusehen ist. Ob die Desamidierung des Ornithins noch weiterschreitet ist nicht bekannt. Da Guanidin bei der Eiweißfäulnis nicht gefunden wird und Harnstoff stets auftritt, so hat man anzunehmen, daß Arginin zu Harnstoff und Ornithin primär hydrolysiert wird. Dabei ist ein Enzym zu supponieren, welches man als Arginase in tierischen Organen bereits nachgewiesen hat (2). Ob der in Bacterienkulturen auftretende Harnstoff (3) nur dem Arginin entstammt, ist allerdings fraglich. Nach FOSSE (4) wäre es sogar nicht ausgeschlossen, daß sich Harnstoff bei energischer Oxydation von Kohlenhydraten bei Gegenwart von Ammoniak bilden kann.

Auf Pepton kultivierte Bacterien bilden vielfach, wie z. B. Bac. coli, Kreatinin (5), und auch aus Erdboden wurde Kreatinin durch SCHREINER und SHOREY (6) isoliert, wo es offenbar mikrobischen Ursprunges ist. Kreatinin dürfte wahrscheinlich aus dem Arginin hervorgehen:

Arginin: $NH:C\!<\!{}^{NH_2}_{NH} \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$

Kreatin: $NH:C\!<\!{}^{NH_2}_{N(CH_3) \cdot CH_2 \cdot COOH}$ und Kreatinin: $NH:C\!<\!{}^{NH \text{———} CO}_{N(CH_3) \cdot CH_2}$

Bei der Fäulnis von Kreatinin entsteht, wie zu erwarten, Methylaminoessigsäure oder Sarcosin $NH(CH_3) \cdot CH_2 \cdot COOH$ (7).

Der Abbau des Histidins stimmt in vielen Stücken mit dem von Arginin überein. Wichtig ist vor allem, daß verbreitet Decarbonisierung unter Bildung des entsprechenden Amins eintritt, hier β-Imidazolyläthylamin:

Histidin: $\begin{array}{l} NH \cdot CH : N \\ CH \text{===} C \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH \end{array}$

β-Imidazolyläthylamin: $\begin{array}{l} NH \cdot CH : N \\ CH \text{===} C \cdot CH_2 \cdot CH_2NH_2 \end{array}$

Die Bildung dieses Amins hat man sowohl durch Darmbacterien (8) festgestellt, als auch in faulenden Sojasamen gefunden (9). Außerdem kennt

1) D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *54*, 1 (1907); *56*, 305 (1908); *60*, 482 (1909). Ornithinfäulnis auch C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *37*, 507 (1911). — 2) A. KOSSEL u. H. D. DAKIN, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 321; *42*, 181 (1904). EDLBACHER, Ebenda, *95*, 81 (1915); CLEMENTI, Acc. Lincei (5), *23*, 612 (1914); *26*, I, 261 (1917). — 3) A. J. KENDALL u. WALKER, Journ. biol. Chem., *15*, 277 (1913). — 4) R. FOSSE, Compt. rend., *154*, 1448 (1912). Bull. Sci. Pharm., *19*, 464 (1912). — 5) N. ANTONOFF, Zentr. Bakt., I, *43*, 209 (1907). T. GERMAN, Ebenda, *63*, 545 (1912). Kreatin: BENEDICT, Journ. Biol. Chem., *17*, 363 (1914); THOMPSON, WALLACE, CLOTWORTHY, Biochem. Journ., *7*, 445 (1914); THOMAS u. GOERNE, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 163 (1914); SHAFFER, Journ. Biol. Chem., *18*, 525 (1914). Kreatinin: E. BAUER u. TRÜMPLER, Ztsch. Unt. Nahr., *27*, 697 (1914); O. FOLIN, Journ. Biol. Chem., *17*, 463, 469, 475 (1914); CATHCART u. ORR, Journ. of Physiol., *48*, 31 (1914); BENEDICT, Journ. Biol. Chem., *18*, 183 (1914). — 6) O. SCHREINER, SHOREY u. SULLIVAN u. SKINNER, U. S. Dept. Agr. Bull., Nr. 83 (1912). E. C. SHOREY, Journ. Am. Chem. Soc., *34*, 99 (1912). — 7) D. ACKERMANN, Ztsch. Biol., *63*, 78 (1913); *62*, 208 (1913); Kreatinspaltung durch Fäcalmikroben: F. W. TWORT u. E. MELLANBY, Journ. of Physiol., *44*, 43 (1912); *45*, 53 (1912). HNO_2-Wirkung auf Kreatinin: E. SCHMIDT, Arch. Pharm., *250*, 330 (1912). — 8) A. BERTHELOT u. BERTRAND, Compt. rend., *154*, 1643 u. 1826 (1912); *156*, 1029 (1913). MELLANBY u. TWORT, Journ. of Physiol., *45*, 53 (1912). F. HOFFMANN-LA ROCHE, Chem. Zentr., 1913, I, 671. — 9) K. YOSHIMURA, Biochem. Ztsch., *28*, 16 (1910). Synthese von Histamin: KOESSLER u. HANKE, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 1716 (1918).

man durch ACKERMANN (1) die reduktive Desamidierung des Histidins unter Bildung von β-Imidazolylpropionsäure. Endlich ist durch RAISTRICK (2) gezeigt worden, daß die Bacterien der Coli-Ty-Gruppe Histidin ohne Reduktion in die aminofreie ungesättigte Urocaninsäure überführen:

$$C_3H_3N_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH = NH_3 + C_3H_3N_2 \cdot CH : CH \cdot COOH.$$

Trimethylamin wird bei Eiweißfäulnis sehr oft gefunden (3). Man meint, daß es seine Herkunft von beigemengten Lecithiden aus dem Cholin nimmt.

Daß bei Fäulnis von Fleisch außer Kohlensäure Schwefelwasserstoff entweicht, wird schon 1797 von CRAWFORD (4) erwähnt. Von 51 Bacterienarten, die MORRIS (5) hinsichtlich Schwefelwasserstoffbildung untersuchte, waren nur wenige nicht SH_2-Produzenten. Choleravibrionen bilden nach KEMPNER (6) bei Kultur im Hühnerei SH_2. Zahlreiche weitere Angaben über SH_2-Bildung hat RUBNER (7) geliefert. Zweifellos stammt der Schwefelwasserstoff aus den Cystingruppen des Eiweiß. Außer durch die gewöhnlichen Proben kann man nach PORCHER (8) den Schwefelwasserstoff mittels der Thioninprobe mit p-Phenylendiamin und Eisenchlorid nachweisen. NENCKI und SIEBER (9) wiesen zuerst das häufige Vorkommen von Methylmercaptan bei der Eiweißfäulnis nach, was durch die Untersuchungen von SELITRENNY, RUBNER, ZOJA, MÖRNER bestätigt worden ist (10). Methylmercaptan findet sich besonders bei der anaeroben Fäulnis reichlich (11). NENCKI (12) wies das Mercaptan nach, indem er das Destillat aus dem angesäuerten Fäulnisgemisch in 3% Quecksilbercyanidlösung auffing, den Niederschlag mit HCl zerlegte und das entstehende Gas in essigsaures Blei leitete. Mercaptanbildung wird ferner nachgewiesen mit der Probe von DENIGÈS: Grünfärbung mit 0,5% Isatin in konzentrierter Schwefelsäure. Sie gelingt nach PETRI und MAASSEN (13) besonders stark bei Bac. esterificans. Nach BLUMENTHAL (14) kann bis 23% des in Fibrin enthaltenen Schwefels bei der Fäulnis als Methylmercaptan wiedergefunden werden. Die Entstehung von Methylmercaptan ist durch WOHLGEMUTH auch bei der bacteriellen Verarbeitung von reinem Cystin sichergestellt worden (15). Gleichzeitig wurde durch diesen Forscher die Entstehung von Äthylsulfid $(C_2H_5)_2 \cdot S$ beobachtet. Der Abbau des Cystins vollzieht sich wahrscheinlich größtenteils so, daß zunächst Cystein entsteht. Dieses wird durch reduktive Desamidierung in β-Thiomilchsäure übergeführt, welche unter Verkürzung der C-Kette in Thioglykolsäure übergeht; letztere liefert unter CO_2-Abspaltung Methylmercaptan und dieses schließlich Schwefelwasserstoff: Cystein: $SH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$; β-Thiomilchsäure: $SH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$; Thioglykol-

---

1) D. ACKERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 504 (1910). — 2) H. RAISTRICK, Biochem. Journ., *11*, 71 (1917). — 3) YOSHIMURA, l. c. Trennung von Mono- u. Diaminen: F. DE FILIPPI, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 433 (1906). — 4) CRAWFORD, Crells Annal. 1797, I, 335. — 5) M. MORRIS, Arch. Hyg., *30*, 304 (1897). — 6) KEMPNER, Ebenda, *21*, 317 (1894). — 7) M. RUBNER, Ebenda, *16*, 52 (1893). JONES, Zentr. Bakt., II (1901), p. 65. NADSON, Botan. Zentr., *96*, 591 (1904). T. SASAKI u. J. OTSUKA, Biochem. Ztsch., *39*, 208 (1912). — 8) CH. PORCHER u. L. PANISSET, Soc. Biol., *68*, 653 (1910). — 9) NENCKI u. SIEBER, Monatsh. Chem., *10*, 526 (1889). — 10) L. SELITRENNY, Ebenda, p. 908; L. ZOJA, Ztsch. physiol. Chem., *23*, 236 (1897). TH. MÖRNER, Ebenda, *22*, 514 (1897). RUBNER, l. c. — 11) L. F. RETTGER, Journ. Biol. Chem., *2*, 71 (1906). C. A. HERTER, Ebenda, *1*, 421 (1906). — 12) NENCKI, Monatsh. Chem., *10*, 862 (1889). — 13) R. J. PETRI u. MAASSEN, Arb. Kais. Gesundh.amt, *8*, 490 (1893). — 14) F. BLUMENTHAL, Ztsch. klin. Med., *28*, 222 (1895). — 15) J. WOHLGEMUTH, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 469 (1905). BÜRGER, Arch. Hyg., *82*, 201 (1914) fand jedoch nur SH_2-Bildung aus Cystin, kein Mercaptan.

säure: $SH \cdot CH_2 \cdot COOH$; Methylmercaptan: $SH \cdot CH_3$; Schwefelwasserstoff: SH_2.

Die Entstehung von Äthylsulfid kann entweder direkt durch den Abbau von Cystin ohne intermediäre Cysteinbildung durch Decarbonisierung zustande kommen oder, was wahrscheinlicher ist, durch sekundäre Bildung aus vorher entstandenen Äthylmercaptan.

Bei anaerober Caseinfäulnis hat RODELLA (1) Schwarzfärbung durch ausgeschiedenes Schwefeleisen beobachtet.

Kontrovers ist noch die Möglichkeit ob aus phosphorhaltigen Eiweißkörpern bei der Fäulnis flüchtige Phosphorverbindungen entstehen können. STICH (2) hatte behauptet, daß bei gewissen Fäulnisprozessen phosphorhaltige Gase unbekannter Natur in sehr geringer Menge entstehen. YOKOTE (3) hatte es in Abrede gestellt, daß flüchtige Phosphorverbindungen bei Eiweißfäulnis entstehen. Neuerdings ist aber wieder von KULKA (4) behauptet worden, daß bei der Fäulnis von Gehirn und Eidotter durch Bac. putrificus flüchtige Phosphorverbindungen zu beobachten sind, die wenigstens teilweise nach dem spektroskopischen Befund Phosphorwasserstoffverbindungen darstellen.

Einer Aufklärung harren ferner Befunde über die Bildung von Pyridinderivaten bei Eiweißfäulnis (5). Nach ADAMETZ und CHRZASZCZ (6) soll in Milchkulturen von Bac. nobilis ein krystallisiert darstellbares „flüchtiges Alkaloid Tyrothrixin“ gefunden werden, das vielleicht auch in Käse vorkommt.

Schließlich haben wir der verschiedenartigen organischen Stickstoffverbindungen im Boden zu gedenken, die sicher mit dem mikrobischen Eiweißumsatze in Beziehung stehen. Vom organischen N im Boden ist nach JODIDI (7) etwa $^2/_3$ Monaminostickstoff, der Rest Amid- und Diaminostickstoff. Es sind verschiedene Aminosäuren, wie Leucin, Histidin, Arginin, ferner Purin- und Pyrimidinbasen im Boden nachgewiesen worden (8), wie bereits erwähnt, auch Kreatinin.

§ 3.

Die Produkte bei der Eiweißresorption durch Pilze.

Im Vergleiche zu den bacteriellen Eiweißumsetzungen ist das Schicksal der von Pilzen nach der Spaltung dargereichter Eiweißsubstanzen primär gebildeten Produkte wenig bekannt, und wichtige Tatsachen hierüber sind erst in der letzten Zeit bekannt geworden. Wenn auch die Grundprinzipien des Stickstoffumsatzes hier dieselben sein dürften, wie wir sie bei den Bacterien kennen gelernt haben, so ist doch sicher das Gesamtbild sehr verschieden, je nachdem sich die eine oder die andere Erscheinungsgruppe besonders stark ausgebildet zeigt.

---

1) A. RODELLA, Arch. Hyg., *59*, 336 (1907). — 2) C. STICH, Chem. Zentr., 1900, I, 1138. — 3) CH. YOKOTE, Arch. Hyg., *50*, 118 (1905). — 4) KULKA, Zentr. Bakt., *61*, 336 (1911). — 5) OECHSNER DE CONINCK, Compt. rend., *106*, 858 u. 1604; *117*, 1097. — 6) L. ADAMETZ u. F. CHRZASZCZ, Zentr. Bakt., II, *14*, 231 (1905). — 7) S. L. JODIDI, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 396 (1910); *33*, 1226 (1911); *34*, 94 (1912); ferner W. P. KELLEY u. A. R. THOMPSON, Ebenda, *36*, 438 (1914). — 8) Leucin: CH. S. ROBINSON, Ebenda, *33*, 564 (1911); O. SCHREINER u. E. C. SHOREY, Journ. biol. Chem., *8*, 381, 385 (1910). Kreatinin: SCHREINER, SHOREY, SULLIVAN u. SKINNER, U. S. Dept. Agric. Bull., Nr. 83 (1912). SHOREY, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 99 (1912). Bacteriolytische Vorgänge im Boden: O. LOEW u. K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 443 (1907).

Vor allem ist die Abspaltung von Ammoniak aus den primär formierten Eiweißspaltungsprodukten eine bedeutungsvolle Tatsache. Bei Aspergillus niger hatte WEHMER (1) gezeigt, wie reichlich Ammoniumoxalat auftritt, wenn der Pilz auf WITTE-Pepton gezüchtet wird, und BUTKEWITSCH sowie EMMERLING (2) haben dies bestätigt. EMMERLING hat die einzelnen Aminosäuren hinsichtlich dieses Verhaltens als Nährboden geprüft und konnte beim Verarbeiten der meisten Monaminosäuren durch Aspergillus, mit Ausnahme von Leucin und Phenylalanin, diese Erscheinung feststellen, während sie bei Darreichung von Diaminosäuren ausblieb. MARCHAL (3) fand, daß viele Schimmelpilze, auf 10% Hühnereiweiß ohne Zusatz erzogen, Ammoniak bilden, besonders Aspergillus terricola und Cephalothecium roseum. Letztere Arten sind verbreitete Bodenpilze und lenken die Aufmerksamkeit auf den Anteil solcher Organismen bei der Ammonisation im Boden. Trichoderma soll von den Bodenpilzen am wirksamsten ammonisieren (4). Für Fusarium liegen Angaben von MOLLIARD vor, für Glomerella von REED (5). WILEY (6) bestätigte MARCHALS Angaben und fügte Befunde über Sproßpilze hinzu. So wie bei Bacterien Zuckerzufuhr die Desamidierung hemmt, so wurde auch bei der durch WEHMER und BUTKEWITSCH an Schimmelpilzen studierten NH_3-Abspaltung erwiesen, daß sie durch Zuckerdarreichung beschränkt, ja ganz zum Schwinden gebracht werden kann. BUTKEWITSCH sah ferner wie zugesetztes Ammoniumtartrat in Zucker-Peptonkulturen von Aspergillus rasch verschwand, was man dahin deuten kann, daß die Weiterverarbeitung des gebildeten Ammoniaks bei Zuckerzufuhr sehr erleichtert ist. Andererseits wird freilich auch durch erschwerten Luftzutritt oder bei Bindung der formierten Oxalsäure durch $CaCO_3$-Zusatz die Ammoniakbildung gehemmt, wo man von einer leichteren NH_3-Verarbeitung gewiß nicht sprechen kann. Nach anderer Richtung hat SHIBATA (7) die Desamidierungsfrage gefördert, indem er zeigte, daß Acetondauerpräparate von Aspergillus niger eine spaltende Wirkung auf Harnstoff, Acetamid, Oxamid und auch auf Alanin entfalten; Guanidin und Harnsäure wurden nicht angegriffen. Präparate von Pilzdesamidase wurden sodann nach der Preßsaftmethode durch H. PRINGSHEIM (8) gewonnen. Über Amidasegewinnung aus Hefe berichtete EFFRONT (9), und PALLADIN (10) konnte durch abgetötete Hefe Ammoniakabspaltung erzielen. Asparaginspaltung durch Hefeenzym sah KURONO (11). Es ist auch hier nicht klar, ob der Amid-N durch dasselbe Enzym abgespalten wird, welches die Monaminosäuren angreift. EFFRONT berichtet, daß seine Hefeamidase auch Leucin, Glutaminsäure, nicht nur Asparagin spaltete. Ebenso soll das Enzympräparat SHIBATAS, wie erwähnt, auf Alanin wirksam gewesen sein. Wie dem auch sei, jedenfalls werden die Monaminosäuren in N-freie Stoffe übergeführt, besonders reichlich, wenn kein Zucker dargeboten wird.

Das Schicksal der N-freien Reste der Aminosäuren hat die Forschung in den letzten Jahren sehr beschäftigt. Den Ausgangspunkt bildete die

---

1) C. WEHMER, Justs Jahresber. (1892), I, 192. Übersicht des Eiweißabbaues bei Pilzen: Lafars Handb. d. techn. Mykologie, *4*, 255 (1907). — 2) W. BUTKEWITSCH, Jahrb. wiss. Bot., *38*, 147 (1902). O. EMMERLING, Zentr. Bakt., *10*, 273 (1903). — 3) E. MARCHAL, Rec. Instit. botan. Bruxelles, *2*, 55 (1906). — 4) MC LEAN u. WILSON, Science, *40*, 140 (1914). — 5) M. MOLLIARD, Bull. Soc. Bot., *56*; (4), *9*, 332 (1909). H. S. REED, Ann. Rep. Va. Pol. Inst. Agr. Ex. Sta. 1911/12, p. 51. — 6) W. WILEY, Chem. News (1897), Nr. 1954. MUNTZ u. COUDON, Compt. rend., *116*, 395 (1893). — 7) K. SHIBATA, Hofmeist. Beitr., *5*, 384 (1904). — 8) H. PRINGSHEIM, Biochem. Ztsch., *12*, 15 (1908). — 9) J. EFFRONT, Compt. rend., *146*, 779 (1908). — 10) W. PALLADIN u. IWANOW, Bull. Ac. Imp. Petersb. (1912), 573. — 11) K. KURONO, Journ. Agr. Coll. Tokyo, *1*, 295 (1911).

wichtige Konstatierung von F. EHRLICH (1), daß der Gärungsamylalkohol durch Hefe aus dem dem Eiweiß entstammenden Leucin gebildet wird. Von den beiden Bestandteilen des Gärungsamylalkohols entsteht der inaktive Isoamylalkohol durch Wasseraufnahme, CO_2- und NH_3-Abspaltung aus dem Leucin; der optisch aktive d-Amylalkohol in analoger Weise aus dem Isoleucin:

Leucin: $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}>CH \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH + H_2O = \begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}>CH \cdot CH_2 \cdot CH_2OH + NH_3 + CO_2$

Isoleucin: $\begin{matrix}CH_3\\C_2H_5\end{matrix}>CH \cdot CHNH_2 \cdot COOH + H_2O = \begin{matrix}CH_3\\C_2H_5\end{matrix}>CH \cdot CH_2OH + NH_3 + CO_2.$

Das Wichtigste ist, daß diese Vergärung von Aminosäuren, wie sie EHRLICH mit Recht bezeichnet, ein allgemeiner Prozeß ist. So liefert Valin unter der Einwirkung von Hefe Isobutylalkohol, der gleichfalls im Fuselöl des Handels zu finden ist. Tyrosin ergibt p-Oxyphenyläthylalkohol oder Tyrosol, und Phenylalanin den Phenyläthylalkohol. Auch diese beiden aromatischen Alkohole sind durch EHRLICH unter den normalen Gärungsprodukten nachgewiesen worden (2).

Aus Glutaminsäure sollte man nach demselben Abbauschema die Bildung von γ-Oxybuttersäure erwarten. Jedoch ist nach NEUBERG (3) der Abbau wahrscheinlich der folgende: Glutarsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$; α-Ketoglutarsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$; β-Aldehydopropionsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COH$; Bernsteinsäure: $COOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$, zu der als Hefe-Stoffwechselprodukt wohlbekannten Bernsteinsäure. Was mit der Asparaginsäure geschieht, ist noch nicht klar.

Die zu erwartende Malonsäure konnte nicht aufgefunden werden. Bei Darreichung von Phenylaminoessigsäure entsteht durch Hefe Benzylalkohol. Tryptophan liefert ebenfalls den entsprechenden Alkohol Tryptophol. EHRLICH (4) hat auch gezeigt, daß es möglich ist, unter Anwendung von viel Hefe und Zusatz von viel Kohlenhydrat, die Spaltung racemischer Aminosäuren zu erreichen, so daß nur die im Eiweiß vorkommende optischaktive Modifikation verarbeitet wird, während die andere zurückbleibt. Die Fuselölbildung durch Sakéhefe ist sodann durch KURONO (5) gezeigt worden, und PRINGSHEIM (6) hat dasselbe für Monilia, Torula sowie Mucor und Rhizopus dargetan. Ganz andere Vorgänge als die erwähnte Vergärung der Aminosäuren unter Alkohol- und Kohlensäurebildung betreffen die von EFFRONT (7) beschriebenen Prozesse, die er gleichfalls als „Gärung der Aminosäuren" beschreibt. Hier handelte es sich anscheinend wesentlich

1) F. EHRLICH, Vers. Naturforsch. Ges., 1905, II, *1*, 107; Landwirtsch. Jahrb. (1909), Erg.bd. V, p. 289. Ber. chem. Ges., *39*, 4072 (1906); *40*, 1027 (1907); *44*, 139 (1911). Biochem. Ztsch., *2*, 52 (1906). Bedeutung des Eiweißstoffwechsels für die Lebensvorg. in der Pflanzenwelt. Samml. chem. u. chem.techn. Vorträge, hrsg. von HERZ, Bd. XVII. Stuttgart 1911. Österr. Chem.-Ztg., *16*, 323 (1913); Verh. Naturforsch. Ges. 1913, II, *1*, 320. — Vgl. auch O. SCHWARZ, Biochem. Ztsch., *33*, 30 (1911). Synthese von Tyrosol: F. EHRLICH u. PISTSCHIMUKA, Ber. chem. Ges., *45*, 2428 (1912). — 2) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *79*, 232 (1917). M. YUKAWA, Journ. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo, *5*, 291 (1915). — 3) C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *91*, 131 (1918). Über Desamidierung von Hordenin und Adrenalin: F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *75*, 417 (1916). — 4) F. EHRLICH, Ebenda, *1*, 8 (1906); *8*, 438 (1908); *63*, 379 (1914). Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 559 (1910). Auch H. PRINGSHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 96 (1910). — 5) K. KURONO, Journ. Agr. Tokyo, *1*, 283 (1911). — 6) H. PRINGSHEIM, Biochem. Ztsch., *8*, 128 (1908) — 7) J. EFFRONT, Mon. Sci. (4), *23*, I, 145 (1909).

um reduktive Desamidierung von Glykokoll, Asparagin und Glutaminsäure unter Bildung von Essigsäure bzw. Propionsäure und Buttersäure. Da bei diesen Vorgängen stets Wasserstoffentwicklung stattfand, so ist eine Beteiligung von Bacterien nicht unwahrscheinlich.

Nach den Untersuchungen von EHRLICH und JACOBSEN (1) findet die Verarbeitung von Aminosäuren bei den Schimmelpilzen in einer wesentlich anderen Richtung vorzugsweise statt. Hier entstehen nicht Alkohole, sondern Oxysäuren, wie bereits früher von mir vermutet worden ist (1. Aufl., Bd. II, p. 89). So bildet Oidium lactis aus Tyrosin p-Oxyphenylmilchsäure, aus Phenylalanin Phenylmilchsäure und aus Tryptophan die Indolmilchsäure. Da Monilia candida Tyrosin etwa zur Hälfte zu Alkohol (Tyrosol) abbaut, zur anderen Hälfte die Oxysäure bildet, und auch Mucorineen beide Prozesse in verschiedener Intensität zeigen, so liegt es nahe, daran zu denken, daß beide Abbauarten zueinander Beziehungen haben. NEUBAUER und FROMHERZ (2) nehmen an, daß die Aminosäuren zunächst in Hydrat der entsprechenden Iminosäure $R \cdot C(OH)NH_2 \cdot COOH$ übergehen, welches unter NH_3-Abspaltung die Ketosäure $R \cdot CO \cdot COOH$ liefert. Diese gibt unter CO_2-Abspaltung den Aldehyd: $CO_2 + R \cdot COH$ und letzterer durch Reduktion den Alkohol $R \cdot CH_2OH$. Die Ketosäure könnte durch Reduktion andererseits die Oxysäure liefern. Nach EHRLICH wäre die Oxysäure das erste Produkt nach Desamidierung; sie würde zu Aldehyd und Ameisensäure zerfallen, woraus Alkohol und CO_2 hervorgehen. Die Angabe von NEUBAUER und FROMHERZ, daß beim Abbau der Phenylaminoessigsäure Phenylglyoxylsäure als Zwischenprodukt erscheint, ist jedoch durch HORSTERS (3) für Oidium lactis nicht bestätigt worden. Die von PALLADIN (4) bei abgetöteter Hefe beobachtete Ammoniakbindung wird vielleicht nur auf der Bindung durch organische Säuren beruhen. Rassendifferenzen des Hefematerials bei der Verarbeitung von Aminosäuren sind durch TAKAHASHI (5) beobachtet worden.

Da MAZÉ (6) in Schimmelpilzkulturen Nitrit nachweisen konnte, so ist es möglich, daß ein geringer Teil des abgespaltenen Ammoniak der Oxydation anheimfällt.

Die Verfolgung der Stickstoffaufnahme bei Schimmelpilzen (7) ergab, daß in der 1. Woche am meisten N-Verbindungen aufgenommen werden. Später geht ein großer Teil, wahrscheinlich vor allem durch absterbende Zellen (8) wieder in das Substrat über. Wie sehr die N-Aufnahme durch die Kohlenstoffquelle beeinflußt wird, oder wie es WATERMAN (9) nannte, durch das „plastische Äquivalent des Kohlenstoffes", wird im nächsten Kapitel auszuführen sein. DOX und RUTH (10) haben gezeigt, daß auch gewisse Aminosäureester, wie Benzoylalanin und Acetylglycin, durch Schimmelpilzenzyme gespalten werden können, so daß solche Verbindungen zugänglich sind.

---

1) F. EHRLICH u. K. A. JACOBSEN, Ber. chem. Ges., *44*, 888 (1911). — 2) O. NEUBAUER u. K. FROMHERZ, Ztsch. physiol. Chem., *70*, 326 (1911). NEUBAUER, in Biochem. Handlex. von ABDERHALDEN, *4*, 364 (1911). — 3) H. HORSTERS, Biochem. Ztsch., *59*, 444 (1914). Chem.-Ztg., *37*, 74 (1914). — 4) W. PALLADIN u. IWANOW, Bull. Ac. Imp. Petersb. (1912), p. 573. — 5) T. TAKAHASHI u. YAMANOTO, Journ. Coll. Imp. Univ. Tokyo, I, 3, p. 275 (1911). — 6) MAZÉ, Compt. rend., *153*, 357 (1911). — Über Eiweißabbau der Hefe noch W. ZALESKI u. W. SCHATALOFF, Biochem. Ztsch., *55*, 63 (1913). — 7) A. J. DOX u. L. MAYNARD, Journ. biol. Chem., *12*, 227 (1912). — 8) Vgl. O. LOEW u. A. ASO, Bull. Coll. Agr., *7*, Nr. 3 (1907), Tokyo. — 9) H. J. WATERMAN, Versl. kon. Akad. Wet., 30. Nov. 1912. — 10) A. W. DOX u. W. RUTH, Biochem. Bull., *3*, 23 (1913).

Im Vegetationskörper der höheren Pilze lassen sich, wie die Untersuchungen von YOSHIMURA (1) an Cortinellus und von WINTERSTEIN und REUTER (2) an Boletus edulis gezeigt haben, so ziemlich alle Aminosäuren, die als Bausteine des Eiweiß bekannt sind, nachweisen. Auch sind hierzu die von BUGLIA und COSTANTINO (3) mit Hilfe der Formoltitration gewonnenen analytischen Ergebnisse an Amanita caesarea zu vergleichen. In Mutterkornsklerotien wurde Histidin und Tryptophan nachgewiesen (4).

Als Tryptophanreaktion ist wohl die von LÖWY an Champignonextrakt beobachtete Violettfärbung mit konzentrierter Schwefelsäure aufzufassen, die als Indicanreaktion gedeutet wurde (5). Die Bildung von Tryptophan ist übrigens bei Sakéhefe durch TAKAHASHI und ITO (6) direkt gezeigt worden. Indol oder dessen Carbonsäuren sind bei Pilzen nicht gefunden worden.

Wie die autolytischen Untersuchungen an höheren Pilzen durch WINTERSTEIN und die Erfahrungen bei Hefeautolyse von IWANOFF (7) zeigten, entstehen in Pilzen vielfach aus Aminosäuren durch fermentative Kohlensäureabspaltung Amine. So wurden aus Hefe Amylamin und Isoamylamin erhalten, aus Boletus erhielt WINTERSTEIN viel Isoamylamin, p-Oxyphenyläthylamin, Phenyläthylamin, die offenbar aus Leucin bzw. Tyrosin und Phenylalanin hervorgehen. Aus Psalliota wurde wahrscheinlich β-Imidazolyläthylamin erhalten, welches man aber auch aus Mutterkorn kennt (8). Im letzteren kommt außerdem das p-Oxyphenyläthylamin vor (BARGER). Dazu kommt noch, daß es WINTERSTEIN und REUTER gelungen ist, Tetra- und Pentamethylendiamin aus Boletus zu isolieren. Hier spielt also Kohlensäureabspaltung aus Aminosäuren eine bedeutende Rolle. EHRLICH (9) hat gezeigt, daß Hefe, ebenso wie die Aminosäuren, auch noch die Amine p-Oxyphenyläthylamin und Isoamylamin in die Alkohole überzuführen vermag.

Das Trimethylamin, welches fast in allen angeführten Arbeiten über Analyse von Pilzen als Bestandteil angegeben ist, dürfte wohl eher in den Phosphatidumsatz hineingehören und dem Cholin entstammen.

Ein betainartiges Derivat von Histidin, Trimethylhistidin, ist in Pilzen anscheinend nicht selten. Von BARGER (10) in Boletus edulis und Mutterkorn, von KUTSCHER in Psalliota gefunden (11), dürfte es noch in anderen Fällen entdeckt werden.

Arginin wurde in der Autolyse von Steinpilzen durch WINTERSTEIN vermißt. Man darf vermuten, daß der von BAMBERGER und LANDSIEDL (12)

---

1) K. YOSHIMURA u. M. KANAI, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 178 (1913). — 2) E. WINTERSTEIN, C. REUTER u. KOROLEW, Landw. Versuchsstat., *79/80*, 541 (1913). Basische Stoffe aus Amanita muscaria: A. KÜNG, Ztsch. physiol. Chem., *91*, 241 (1914). Fusarium incarnatum soll nach PANTANELLI, Accad. Lincei, *22*, 170 (1914) durch Produktion solcher Basen sogar Pflanzenwurzeln im Boden schädigen. — 3) G. BUGLIA u. A. COSTANTINO, Archiv. di Fisiol., *11*, 125 (1913). — 4) S. FRÄNKEL u. RAINER, Biochem. Ztsch., *74*, 167 (1916). — 5) M. LÖWY, Chem.-Ztg., *34*, 340 (1910). — 6) T. TAKAHASHI, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *5*, 105 (1913). H. ITO, Ebenda, p. 125. — 7) N. IWANOFF, Biochem. Ztsch., *58*, 217 (1913). — 8) R. ZIMMERMANN, Münch. med. Woch.schr., *60*, Nr. 48 (1913). Über das Tyrosinamin auch ROSENMUND, Ber. chem. Ges., *42*, 4778 (1909). GEO. BARGER, Journ. Chem. Soc., *95*, 1123 (1909). A. J. EWINS u. LAIDLAW, Journ. of Physiol., *41*, 78 (1910). — 9) F. EHRLICH u. PISTSCHIMUKA, Ber. chem. Ges., *45*, 1006 (1912). — 10) G. BARGER u. A. J. EVINS, Biochem. Journ., *7*, 204 (1913). Vgl. auch WINTERSTEIN u. REUTER, l. c. für Boletus u. Ztsch. physiol. Chem., *86*, 234 (1913). — 11) F. KUTSCHER, Ztsch. Unt. Nahr.- u. Gen.mittel, *21*, 535 (1911). ENGELAND u. KUTSCHER, Zentr. Physiol., *26*, 569 (1912). — 12) M. BAMBERGER u. A. LANDSIEDL. Monatsh. Chem., *24*, 218 (1903); *26*, 1109 (1905). Harnstoff in Pflanzen: E. VERSCHAFFELT, Pharm. Weekbl., *51*, 189 (1914).

in Lycoperdon Bovista zuerst aufgefundene Harnstoff, der seither in Pilzen in weiterer Verbreitung konstatiert worden ist, mit dem Umsatze des Arginins in Beziehung steht. Die Menge des Harnstoffes scheint zu wechseln. So vermißten GORIS und MASCRÉ (1) bei ihrer Untersuchung von Lycoperdon den Harnstoff, fanden auch in Psalliota nicht immer Harnstoff auf, während in anderen Versuchen 4,3% des Trockengewichtes an Harnstoff zu isolieren waren. Ältere Exemplare von Psalliota enthielten mehr. Tricholoma Georgii erwies sich gleichfalls als reich an Harnstoff. FOSSE (2) gelang es auch im Zellsaft von Penicillium und Aspergillus Harnstoff nachzuweisen. Das harnstoffspaltende Enzym, Urease, wurde gleichfalls in verschiedenen Schimmelpilzen gleichzeitig mit Harnstoff nachgewiesen. Der letztgenannte Forscher gibt übrigens an, daß Harnstoff auch bei energischer Oxydation von Kohlenhydraten in Gegenwart von Ammoniak entstehen kann, worüber im Hinblick auf biologische Fragen wohl noch Untersuchungen nötig sind (3). Der Nachweis eines auf Arginin unter Bildung von Harnstoff und Ornithin wirksamen Enzyms (Arginase) ist bisher nur für die Hefe durch SHIGA (4) geführt worden. Arginase ist wohl allgemein verbreitet zu erwarten.

Fünfunddreißigstes Kapitel: **Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung bei Bacterien und Pilzen.**

§ 1.

Stickstoffverbindungen als Baustoffe und als Quelle von Betriebsenergie. Die Verarbeitung verschiedener Stickstoffverbindungen durch Bacterien.

Ein sehr auffälliges und allgemeines Moment unterscheidet den Stoffwechsel der überwiegenden Mehrheit der Tiere von dem Stoffwechsel der Pflanzenwelt. Dies ist die reichliche Aufnahme von Stickstoffverbindungen als Nahrungsmaterial und die reichliche Abgabe von N-haltigen Auswurfsstoffen. Die Pflanze pflegt sich demgegenüber als ökonomischer Wirt zu zeigen, welcher das in der Regel sparsame Stickstoffmaterial, welches die Außenwelt zur Verfügung stellt, möglichst ausnutzt und in relativ geringem Maße Stickstoffverbindungen unter den nicht verwertbaren Stoffwechselendprodukten wieder erscheinen läßt. Die Kohlenstoffgewinnung und Kohlenstoffabgabe bieten hierzu einen kräftigen Kontrast, indem hierbei ein relativ großer Umsatz zutage tritt. Dies illustriert die große Bedeutung der Stickstoffverbindungen als Quelle für Betriebsenergie im Tierreiche und die viel geringere Bedeutung dieser Stoffe als Energiequelle für die Pflanzen, welche meist N-freie Kohlenstoffverbindungen, vor allem Zucker und Fett, im normalen Betriebe zur Energiegewinnung ausnutzen und nur im Inanitionszustande zur Zersetzung der stickstoffhaltigen Zellbestandteile greifen. Beim Tier dürften neben Zucker und Fett voraussichtlich Eiweißstoffe in stetem regen Zerfall

1) A. GORIS u. M. MAŜCRÉ, Bull. Sci. Pharm., *16*, 82 (1909). Compt. rend., *147*, 1488 (1908); *153*, 1082 (1911). Fehlen in Scleroderma: J. ZELLNER, Sitz.ber. Wien. Akad., *127*, IIb, 411 (1918). — 2) R. FOSSE, Compt. rend., *156*, 263 (1913); Compt. rend. Soc. Biol., *77*, 129 (1914). — 3) FOSSE, Compt. rend., *154*, 1448 (1912); *168*, 1164 (1919). — 4) K. SHIGA, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 505 (1904).

begriffen sein (VOITS „circulierendes Eiweiß"), die dauernd ersetzt werden müssen, um das Stoffwechselgleichgewicht zu erhalten. Bei der Pflanze steht die Bedeutung der Proteinstoffe als „Organeiweiß" im Sinne VOITS so entschieden im Vordergrunde, daß man derzeit über die Bedeutung des Eiweißzerfalles in der Pflanze als Betriebsenergiequelle nicht viele Erfahrungen besitzt. Ein reichlich ernährtes gesundes Tier scheidet nicht viel weniger Stickstoff in Harn und Fäces aus, als es mit der Nahrung aufnimmt, steht somit ungefähr im Stickstoffgleichgewicht. Einen solchen Zustand kennt man bisher in pflanzlichen Organismen noch nicht. Soweit bekannt, wächst die im Pflanzenkörper befindliche Stickstoffmenge stetig heran, ohne daß mehr als die geringe in den abgestoßenen älteren Teilen vorhandene Stickstoffquantität verloren ginge. Um die verbindenden Wege zu finden, welche über diese Kluft zwischen pflanzlichem und tierischem Stoffwechsel hinüberführen, eignen sich Studien am besten, welche man an den regelmäßig eiweißreiche organische Substrate bewohnenden saprophytischen und parasitischen Formen der Bacterien und Pilze, besonders der ersteren, anstellen kann. Noch LIEBIG war der Meinung, daß Pilze zu ihrer Ernährung, ebenso wie die Tiere, nur Eiweißstoffe verwenden könnten. PASTEUR gelang es 1858 zuerst diese Meinung zu erschüttern, indem er zeigte, wie man Hefen und Schimmelpilze mittels weinsaurem Ammonium ernähren kann. NÄGELI (1) erweiterte diese Erfahrungen ungemein, wenn sich auch seine allgemeinen Folgerungen, wie darzulegen sein wird, kaum aufrecht erhalten lassen. Für die Bacterien blieb allerdings die Meinung, daß sie sich ausschließlich der Eiweißstoffe als N-Quellen bedienen, großenteils länger erhalten, nicht zum geringsten deshalb, weil sich die Bacteriologie fast ausschließlich eiweißhaltiger Nährböden zu bedienen pflegte. MAASSEN, USCHINSKY, FRÄNKEL (2) haben aber zu erweisen vermocht, daß eine große Zahl von saprophytischen und parasitisch lebenden Bacterienformen auf gänzlich eiweißfreiem Substrate zu vegetieren vermögen, darunter viele pathogene Arten, wie Milzbrandbacillus, Eiterstreptococcen und Tuberkelbacillen. Als eiweißfreie Bacteriennährlösung wurde besonders die von USCHINSKY angegebene Mischung viel verwendet. Sie besteht aus 1000 Teilen Wasser, 30—40 Teilen Glycerin, 5—7 Teilen NaCl, 0,1 $CaCl_2$, 0,2—0,4 $MgSO_4$, 2,5—3 K_2HPO_4, 6—7 Ammoniumlactat, 3—4 Teilen Asparagin. Es ist demnach auch für die Bacterien, selbst für die an lebendes und totes tierisches oder pflanzliches Substrat strengst angepaßten Formen durchaus fraglich, ob sie die Eiweißstoffe ihres normalen Substrates unbedingt zum Leben notwendig haben. Daß sie jedoch facultativ alle lebenswichtigen Funktionen mit Eiweißstoffen unterhalten können, also auch die Betriebsenergie aus jenen Verbindungen schöpfen, steht außer Zweifel. Dazu kommen die wichtigen Erfahrungen der neueren Zeit über den tierischen Eiweißstoffwechsel, welche deutlich zeigen, daß vollständig abgebautes Eiweiß auch für die höchst organisierten Tiere vollkommen ausreicht, um das Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Trotzdem scheint nach dem, was bis heute bekannt ist, der bacterielle Stickstoffhaushalt dem Stoff-

---

1) C. v. NÄGELI, Sitz.ber. Münch. Akad. (1879). Botan. Untersuch. über niedere Pilze (1882), p. 1. — 2) A. MAASSEN, Arb. Kais. Ges.amt., *9*, 401 (1894). USCHINSKY, Zentr. Bakt., *14*, 316 (1894). C. FRÄNKEL, Hyg. Rdsch., *4*, 769 (1894). O. VOGES, Zentr. Bakt., *15*, 453 (1894). SANDERS, Arch. Hyg., *16*. KÜHNE, Ztsch. Biol., *30*, 221. PROSKAUER u. BECK, Ztsch. Hyg., *18*, 128. Übersicht über die Stickstoffernährung der Bacterien bei W. BENECKE in Lafars Handb. techn. Mykol., *1*. 401 (1907).

wechsel der anderen Pflanzen verwandter zu sein als dem tierischen Stoffwechsel. So ist es festgestellt, daß Aminosäuregemische für die Aufrechterhaltung des tierischen Stickstoffgleichgewichtes nur dann ausreichen, wenn darin alle Bausteine des Eiweißmolekels vertreten sind; Abwesenheit von Tyrosin und Tryptophan allein kann die Deckung des Nahrungsbedarfes verhindern. Nur Glycocoll und Prolin dürfen nach ABDERHALDEN (1) fehlen. Bei Bacterien hingegen kennt man keinen Fall, in dem es nicht möglich wäre, aus einer einzigen Aminosäure alle anderen aufzubauen, und Darreichung von aromatischen Gruppen ist nirgends nötig. Da ferner weitverbreitet bei Bacterien die Fähigkeit besteht, aus organischsauren Ammoniumsalzen alle nötigen Aminokerne zu konstruieren, während beim Tier durch Darreichung von Ammoniumacetat höchstens eine Stickstoffretention zu erzielen war (2), so muß dem Tierorganismus eine Reihe von Funktionen abgehen, die selbst bei streng parasitischen Bacterien noch wohl entwickelt sind. Eine Differenz zeigt sich auch in dem Umstand, daß das Eiweißminimum bei Ernährung mit artfremdem Eiweiß beim Tier immer größer sein muß als das Hungerminimum. Nur bei Verfütterung arteigenen Eiweiß ist es möglich, beide Minima zusammenfallen zu lassen (3). Bei Bacterien hat man nirgends eine solche Bevorzugung des arteigenen Eiweißes erkannt. Die wichtigste Etappe besteht sohin einmal in der Umwandlung einer bestimmten dargereichten Aminosäure in die übrigen Bausteine des Proteinmolekels, zum anderen in dem Aufbau von Aminosäuren aus andersartigem Material. Dabei ist zu bedenken, daß wir Anhaltspunkte dafür besitzen, daß auch im Tierkörper Aminosäuresynthesen möglich sind (4).

Daß Beziehungen zur Konzentration der N-Nahrung bestehen, kann nach den Untersuchungen von RUBNER (5) nicht bezweifelt werden, doch besteht keine proportionale Abhängigkeit. Manche Bacterienformen vermögen im Gegenteil nur in äußerst verdünnter Stickstoffnahrung zu existieren (Oligonitrophilie von BEIJERINCK), so daß eine Vegetation noch in reinem Wasser möglich ist, und es schwer fällt, in derartigen Fällen die Möglichkeit einer Aufnahme von freiem Luftstickstoff auszuschließen (6).

Bei den saprophytischen und parasitischen Bacterienformen kann man nicht sagen, daß Gewinnung von Betriebsenergie auf Kosten von Stickstoffsubstanz der normale Prozeß ist, da bei Zuckerdarreichung in der Regel eine viel ökonomischere Ausnutzung des Eiweißmateriales erfolgt, und wie wir sahen, die Indol- und Kresolbildung bei reichlicher Kohlenhydratzufuhr ausbleibt. Allerdings wird angegeben, daß bei einzelnen Bacterien auf zuckerfreiem Substrate dieselben Chemismen vorherrschen (7). Doch wird die Ammoniakabspaltung aus Aminosäuren stark erhöht, wenn Zuckerdarreichung fehlt, ganz analog den bereits be-

---

1) E. ABDERHALDEN u. FUNK, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 418 (1909); *67*, 405 (1910); *77*, 22 (1912). P. RONA u. W. MÜLLER, Ebenda, *50*, 263 (1906). ABDERHALDEN, Ebenda, *57*, 348 (1908). — 2) ABDERHALDEN, Ebenda, *78*, 1 (1912); *82*, 1 (1912); ebenda, p. 21. — 3) L. MICHAUD, Ebenda, *59*, 405 (1909). — 4) Alaninsynthese: G. EMBDEN u. E. SCHMITZ, Biochem. Ztsch., *29*, 423 (1910). H. FELLNER, Ebenda, *38*, 414 (1912). β-Benzylalanin nach Darreichung von β-Benzylbrenztraubensäure: F. KNOOP, Ztsch. physiol. Chem., *67*, 489 (1910). ABDERHALDEN, Ebenda, *74*, 481 (1911). — 5) M. RUBNER, Arch. Hyg., *57*, 161 (1906). — 6) Oligonitrophile Bacterien u. a. R. PEROTTI, Ann. di Botan., *4*, 213 (1906). Bestimm. von organ. N in Wasser: J. C. BROWN, Journ. Chem. Soc., *87*, 1051 (1905). Vgl. auch den interessanten Fall von Phoma betae: SCHANDER u. W. FISCHER, Landw. Jahrb., *48*, 717 (1915). — 7) Z. B. A. J. KENDALL u. CH. J. FARMER, Journ. Biol. Chem., *12*, 219 (1912). Andererseits zeigt B. coli in stickstofffreier Zuckerlösung keine Gasentwicklung nach E. KUHTZ, Arch. Hyg., *58*, 125 (1906).

sprochenen Fällen. Daß dieser Prozeß fermentativer Natur ist, scheint aus den Erfahrungen von EFFRONT (1) an Amylobacter butylicus hervorzugehen. Über Säureamidspaltung durch Bacterien im Boden hat JODIDI (2) Studien angestellt. Andere Erfahrungen legen nahe, daß auch Bacterien die Aminosäuren unter Bildung von Alkoholen und CO_2 verarbeiten können, wie es durch EHRLICH für die Bildung von Isoamylalkohol aus Leucin und d-Amylalkohol aus Isoleucin gezeigt worden ist (3). Sonst entstehen sehr oft aus Aminosäuren intermediär Fettsäuren, aus Leucin Valeriansäure, aus der zum Leucin gehörigen Oxysäure (Leucinsäure) nach STOLNIKOFF (4) hingegen Capronsäure, Buttersäure und Essigsäure; aus Phenylalanin nach BAUMANN (5) Phenylessigsäure, aus Tyrosin nach SALKOWSKI (6) Hydrozimtsäure, aus Asparagin nach MIQUEL (7) Ammoniumsuccinat. Über Aminosäureverarbeitung durch verschiedene Bacterien sind noch die Arbeiten von GALLIMARD und von ARMAND-DELILLE zu vergleichen (8). Auch Hippursäure wird durch Bacterien aerob sowie anaerob unter Ammoniakabspaltung verarbeitet (9).

Nicht wenige Bacteriengruppen sind jedoch tatsächlich der Energiebeschaffung aus dem Zerfalle von Stickstoffverbindungen angepaßt. So ist es wahrscheinlich, daß die Harnstoffgärung erzeugenden Bacterien, wenigstens unter ihren natürlichen Vegetationsbedingungen, die bei der Harnstoffspaltung in Ammoniak und Kohlensäure freiwerdende Energie für ihren Betrieb im Stoffwechsel vorwiegend ausnutzen. Einen weiteren Fall bilden die Denitrifikationsmikroben, welche Nitrat unter Entbindung von freiem Stickstoff zersetzen. Endlich sind es die überaus interessanten nitrifizierenden Bacterien, welche aus der Oxydation von Ammoniak zu Nitrit, bzw. aus der Oxydation des letzteren zu Nitrat ihre Betriebsenergie schöpfen. Für den Grad der Anpassung an die Energiegewinnung aus Stickstoffverbindungen, von denen alle erwähnten Formen eine relativ ungeheuer große Quantität zu verarbeiten gezwungen sind, spricht der Umstand, daß die Nitrosobacterien, wenigstens in Reinkulturen, nach WINOGRADSKY (10) schon durch Glucose in Konzentrationen von 0,1 % sehr geschädigt werden, und auch bei den Denitrifikationsmikroben Zucker nach JENSEN (11) eine schlechtere Kohlenstoffnahrung darstellen kann, als organische Säuren. Diese Fälle sind noch einer ausführlichen Würdigung in den folgenden Paragraphen zu unterziehen.

Mit dem Zurücktreten der Bedeutung der N-Verbindungen als Quelle für Betriebsenergie bei den übrigen Bacterienformen steht es in Verbindung, wenn der Nährwert einer organischen Stickstoffverbindung auch durch deren Stellung unter den Kohlenstoffverbindungen mitbestimmt wird. In zahlreichen Fällen, denen wir bei den höheren Pilzen ganz allgemein begegnen, ist es entschieden vorteilhaft für das Gedeihen der Organismen, über eine gesonderte C- und N-Quelle zu verfügen, wobei für die erstere Zucker sehr allgemein den Vorrang in der Eignung besitzt. Die N-Ver-

---

1) J. EFFRONT, Compt. rend., *146*, 779 (1908). — 2) S. L. JODIDI, Journ. Franklin Inst., *175*, 245 (1913). — 3) Vgl. für Proteus vulgaris: P. NAWIASKY, Arch. Hyg., *66*, 209 (1908). — 4) STOLNIKOFF, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 345. — 5) BAUMANN, Ber. chem. Ges., *13*, 385; Ztsch. physiol. Chem., *7*, 782. — 6) E. u. H. SALKOWSKI, Ebenda, p. 450. — 7) P. MIQUEL, Ber. chem. Ges., *12*, 672 (1879). — 8) J. GALLIMARD, LACOMME u. MOREL, Compt. rend., *143*, 349 (1906). P. ARMAND-DELILLE, A. MAYER, G. SCHAEFFER u. E. F. TERROINE, Journ. de Physiol., *15*, 797 (1913) für Bac. tubercul. — 9) BURRI, HERFELDT u. STUTZER, Journ. f. Landw. (1894), p. 329. N. GOSLINGS, Zentr. Bakt., *33*, 333 (1912). — 10) WINOGRADSKY u. OMELIANSKY, Zentr. Bakt., II, *5*, 329 (1899). — 11) HJ. JENSEN, Ebenda, *3*, 622 (1897).

bindung wird in der Regel nur dann maximal ausgenutzt, wenn eine geeignete C-Verbindung gleichzeitig zur Verfügung steht. Nicht unerwartet wird uns bei Beachtung dieser Verhältnisse der Fall erscheinen, daß dieselbe N-Verbindung ungleichen Wert als Baustoff besitzt, wenn verschiedene geeignete C-Verbindungen mit ihr zugleich dargereicht werden. So gaben BOEKHOUT und OTT DE VRIES (1) für Bac. fuchsinus an, daß er durch NH_4-Salze seinen N-Bedarf wohl bei Darreichung von Weinsäure, nicht aber bei Bietung von Oxal- oder Citronensäure decken könne. Die Essigbacterien nutzen nach HOYER (2) Pepton und Asparagin nur bei Gegenwart von Glucose aus. Die Verhältnisse liegen in solchen Fällen sehr verwickelt, und unter anderem hat man auch den electiven Stoffwechsel (PFEFFER) (3) dabei in Betracht zu ziehen. Man mag im allgemeinen ein Parallelgehen des „Nährwertes" von N-Verbindungen mit der Tauglichkeit der Verbindungen zur Eiweißsynthese annehmen, und es ist wohl kaum ein Zufall, daß die direkten Hydratationsprodukte der Proteinstoffe: die Monaminosäuren, Diaminosäuren, Glucosamin, weitverbreitet eine ausgezeichnete Stickstoffnahrung abgeben. Für Bacterien sind jedoch diese Verhältnisse methodischer Schwierigkeiten halber noch wenig bekannt, und es hält derzeit schwer, ein halbwegs allgemein gültiges Gesetz hierfür aufzustellen.

NÄGELI war wohl der erste, welcher sich bemühte, allgemein leitende Prinzipien für die Tauglichkeit von N-Verbindungen als Bacteriennährstoffe zu finden, doch hat sich NÄGELIS Folgerung, daß der NH_2-Stickstoff allgemein am günstigsten, weniger der NH-Stickstoff, noch schlechter der NO- und CN-Stickstoff wirke, nicht bewährt, da sich zu viele Ausnahmen ergeben, und die oben erwähnten Abhängigkeitsverhältnisse zwischen C- und N-Nahrung das Gesamtbild oft proteusartig veränderlich gestalten. Das Tatsachenmaterial ist überdies noch zu wenig reichhaltig, und viele Untersuchungen lassen die notwendige weitausgreifende Disposition der Experimente vermissen. Direkt widerlegt ist die NÄGELIsche Theorie durch die Beobachtungen über die Assimilation von Nitrilen: Acetonitril durch REINKE (4), Mandelsäurenitril durch PFEFFER (5). Ferner wird nach BOKORNY (6) auch Trinitrocellulose durch Bacterien verarbeitet.

Den merkwürdigen Vorgang der Zerlegung von Stickoxydul durch Bacterien hat zuerst BEIJERINCK (7) der Aufmerksamkeit gewürdigt. Allerdings ist es zweifelhaft in wie vielen derartigen Fällen nur der Sauerstoff nach Zerlegung dieser Verbindung, und nicht der entweichende N ausgenutzt wird. Stickstoffwasserstoffsaure Salze sind nach LOEW und nach SCHATTENFROH (8) starke Gifte; $\frac{1}{20}$ bis 1 ‰ ihrer Lösungen töten als Natriumsalze (N_3Na) bereits ab. Viel untersucht wurde in neuerer Zeit die Wirkung von Cyanamid und Calciumcyanamid auf Bacterien (9), mit dem Ergebnisse, daß nur sehr verdünnte Lösungen hiervon vertragen werden. Jedenfalls ist die langsame Umsetzung von Cyanamid in Harnstoff im Boden nicht

---

1) F. W. J. BOEKHOUT u. J. OTT DE VRIES, Zentr. Bakt., II, *3*, 497 (1898). — 2) D. HOYER, Ebenda, p. 687. — 3) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Botan., *28*, 205 (1895). — 4) REINKE, Unters. a. d. Labor. Göttingen (1888), Heft III, p. 37. — 5) PFEFFER, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. I, p. 398; FERMI, Zentr. Bakt., *15*, 722 (1894). — 6) TH. BOKORNY, Chem.-Ztg., *20*, 985 (1896). — 7) M. W. BEIJERINCK u. MINKMAN, Zentr. Bakt., *25*, 30 (1909). — 8) O. LOEW, Chem. Zentr. (1891), I, 34; (1892), I, 51. SCHATTENFROH, Arch. Hyg., *27*, 231 (1896). — 9) R. PEROTTI, Arch. Farmacol., *5*, 368 (1906). Atti Acc. Linc. Roma (5), *16*, II, 704 (1907). C. VON SEELHORST u. A. MÜTHER, Journ. f. Landw., *53*, 329 (1905). H. KAPPEN, Zentr. Bakt., II, *24*, 382 (1909). FR. REIS, Biochem. Ztsch., *25*, 477 (1910).

in erster Linie das Werk von Bacterien. Cyanamid polymerisiert sich in der Lösung leicht zu Dicyandiamid, welches von Bacterien nicht als Gift empfunden wird und mit Pepton dargereicht in geringem Grade von verschiedenen Mikroben aufgenommen wurde (1). Nach PEROTTI (2) wird auch Sulfocyanür durch Bodenbacterien verarbeitet. Die vergleichsweise Verarbeitung von Ammoniumsalzen und Nitraten hat zuletzt VOGEL (3) bei Bodenbacterien studiert, mit dem Ergebnis, daß Ammoniak-N erheblich stärker in Eiweiß-N übergeführt wird als Nitrat-N. Sehr zahlreiche sorgfältige Versuche über dieses Thema hat BIEREMA (4) angestellt. Auch nach älteren Nachrichten sind die Nitrate für Bacterien öfters untauglich, wie es auch noch bei Pilzen zu beobachten ist.

Nach DEMOUSSY (5) führen Bodenmikroben nicht nur Methylamin und Trimethylamin in NH_3 über, sondern auch komplexe Basen mit ringförmig geschlossener Kette: Anilin, Pyridin, Chinolin, wenngleich sehr langsam. Cholin muß nach RUCKERT (6) nicht durch intermediäre Trimethylamin- oder Neurinbildung verarbeitet werden, sondern kann direkt NH_3, CO_2 und Wasser liefern. Bei der Spaltung von Betain durch Mikroben wird nach EHRLICH (7) nach Desamidierung Glykolsäure formiert. Über Verarbeitung flüchtiger Basen mit höherem Molekulargewicht haben TRILLAT und FOUASSIER (8) Angaben geliefert.

Auf die einzelnen Untersuchungen über die N-Ernährung von Bacterien hier einzugehen, ist schwer möglich. Überdies beziehen sich ältere Arbeiten wie jene von JAKSCH (9) über die Ernährung des „Harnstoffpilzes" auf unkontrollierbare Bacteriengemenge. Es seien nur kurz namhaft gemacht die Untersuchungen von PROSKAUER und BECK und späteren Forschern (10) über die N-Ernährung des Tuberkelbacillus, diejenigen EIJKMANS (11) über Photobacterium javanense, welches ausschließlich Pepton unter den gebotenen Bedingungen assimilierte, von PÉRÉ (12) und PFAUNDLER (13) über Bact. coli. Typhusbacillus von GASSNER (14), Paratyphi von KISCH (15), von LIESENBERG und ZOPF (16) über „Leuconostoc mesenterioides" und Bact. vernicosum, von CHARRIN und DISSARD (17) über Bac. pyocyaneus, von BEHRENS (18) über Bac. lupuliperda, von SCHREIBER (19) über Bac. subtilis, anthracis und tumescens, von HUEPPE (20) über Milchsäurebacterien,

1) F. REIS, l. c. R. PEROTTI, Zentr. Bakt., II, *21*, 200 (1908). Annal. di Botan., *6*, 337 (1908). A. STUTZER u. F. REIS, Journ. f. Landw., *58*, 65 (1910); O. LOEW, Chem.-Ztg. (1908), p. 57 sah günstige Wirkung. Nach LÖHNIS, Ztsch. Gär.phys., *5*, 16 (1915) soll die Ammonisierung des Cyanamids im Boden zwar nicht durch Bacterien, aber durch Bodenpilze geschehen. — 2) R. PEROTTI, Staz. Sper. agr. ital., *39*, 406 (1906). — 3) J. VOGEL, Zentr. Bakt., II, *32*, 169 (1911). Mitteil. Kaiser Wilhelms Inst. f. Landw. Bromberg (1911), p. 330. — 4) ST. BIERMA, Zentr. Bakt., II, *23*, 672 (1909). — 5) E. DEMOUSSY, Compt. rend., *126*, 253 (1898). — 6) A. RUCKERT, Arch. Pharm., *246*, 676 (1908). — 7) F. EHRLICH u. FR. LANGE, Ztsch. Ver. deutsch. Zuck. Ind. (1914), p. 158. — 8) TRILLAT u. FOUASSIER, Compt. rend., *155*, 1184 (1912). — 9) R. v. JAKSCH, Ztsch. physiol. Chem., *5*, Heft 6. Aber auch neuere Arbeiten, wie ABDERHALDEN, Ztsch. physiol. Chem., *85*, 112 u. 131 (1913) über bacterielle Fäulnis von Asparaginsäure und Glutaminsäure. — 10) PROSKAUER u. BECK, Ztsch. Hyg., *18*, 128. A. MAYER u. SCHAEFFER, Compt. rend., Soc. Biol., *82*, 113 (1919). G. LOCKEMANN, Deutsche med. Woch.schr., *45*, 510 (1919). — 11) EIJKMAN, Kochs Jahresber. (1892), p. 71. — 12) PÉRÉ, Ann. Inst. Pasteur, *6*, 512 (1892). — 13) PFAUNDLER. Zentr. Bakt., I, *31*, 113 (1902); VERZAR, Biochem. Ztsch., *91*, 1 (1918). — 14) GASSNER, Zentr. Bakt., I, *80*, 258 (1917). — 15) BR. KISCH, Zentr. Bakt., I, *82*, 28 (1918). Wien. klin. Wochschr., *31*, Nr. 21 (1918). — 16) C. LIESENBERG u. ZOPF, Zopfs Beitr., I (1892). — 17) A. CHARRIN u. A. DISSARD, Soc. Biol. (1893), p. 182. — 18) J. BEHRENS, Woch. Brau. (1896), 802. — 19) O. SCHREIBER, Zentr. Bakt., I, *20*, 353 (1896). — 20) F. HUEPPE, Mitteil. Kais. Ges.amt., *2*, 309 (1885). A. STUTZER, Biochem. Ztsch., *70*, 299 (1915).

die Angaben von Chudjakow (**1**) über die N-Versorgung der anaeroben Buttersäurebildner, die Untersuchungen von Loew und Kozai, sowie von Franzen (**2**) über Bac. prodigiosus, jene von Trommsdorf (**3**) über die Abwasserbacterien Leptomitus und Sphaerotilus, die auch Nitrat gut assimilieren, und auf die Zusammenstellungen von Bokorny (**4**). Nach diesen Daten ist Asparagin sehr allgemein eine gute N-Quelle, ebenso andere Aminosäuren. Wie divergent aber bezüglich mancher Substanzen die Resultate ausfielen, zeigt sich u. a. beim Harnstoff, welchen Pyocyaneus, Coli, Phot. javanense, Bac. tuberculosis nicht verarbeiten sollen, während ihn viele Bacterien, darunter die anaeroben Buttersäurebacterien, wohl verwenden können. Wie angegeben wird, sollen Tuberkelbacillen wohl Biuret, nicht aber Harnstoff assimilieren. Bemerkenswert ist die Bildung von Kreatinin in Peptonlösung durch Bac. proteus vulgaris (**5**). Ob sich eine strengere Scheidung von ernährungsbiologischen Gruppen nach dem scheinbar bestangepaßten Substrat in dem Sinne durchführen läßt, wie es Kisch (**6**) versuchte, müssen erst ausgedehntere Erfahrungen zeigen. Immerhin mag eine Charakterisierung als Peptonbacterium, Amidobacterium, Ammonbacterium, nitratpositive Form in speziellen Fällen zur Orientierung gute Dienste leisten.

Lutz (**7**) fand eine merkliche Ausnutzung von Alkaloiden bei Gegenwart von Ammoniak-N. Loew (**8**) gab an, daß Pyridin, Pikrinsäure, Nitranilsäure, Nitrobenzoesäure, Äthylendiamin weder giftig noch nährend wirken. Nach allem ist es noch eine mißliche Sache, Verallgemeinerungen hinsichtlich Nährfähigkeit und chemischer Konstitution von N-Verbindungen zu machen, und einschlägige Bemühungen, wie jene von O. Loew, sind einstweilen mit Vorsicht aufzunehmen.

Von Interesse ist auch das Studium der den Mikroben des Humusbodens zur Verfügung stehenden N-Verbindungen. Damit haben sich Arbeiten von Loges, Dojarenko und André, später von Schreiner und Shorey sowie von Jodidi (**9**) befaßt, außerdem Studien von Nikitinsky (**10**). Man weiß dadurch, daß der Monamino-N einen sehr bedeutenden Anteil des Humusbodenstickstoffes ausmacht, der Gehalt an leicht abspaltbarem Amid-N hingegen gering ist. Unter den Bodenmikroben sind die Actinomyceten von großer Bedeutung. Münter (**11**), welcher die Stickstoffversorgung dieser Bacterien untersuchte, fand, daß sie Ammoniumsalze, Harnstoff, Thioharnstoff, nicht aber Nitrate ausnutzen, und Dicyanamid wohl als N-Quelle, nicht aber als C-Quelle benutzen können. Neuere Arbeiten von Krainsky und Fousek (**12**) geben an, daß Nitratassimilation bei diesen Organismen stattfinden kann, und daß Nitrate zu Nitrit reduziert werden.

---

1) N. Chudjakow, Zentr. Bakt., II, *4*, 391 (1898). — **2**) O. Loew u. Y. Kozai, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *5*, 137 (1902); Franzen u. Egger, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 311 (1914). — **3**) R. Trommsdorff, Zentr. Bakt., II, *48*, 62 (1917). — **4**) Bokorny, Pflüg. Arch., *66*, 114 (1897); ebenda, *168*, 533 (1917). — **5**) J. H. Fitzgerald u. C. L. A. Schmidt, Proc. Soc. exp. Biol., *10*, 55 (1913). Fäulnis von Betain: Ackermann, Ztsch. Biol., *64*, 44 (1914). Koch u. Oelsner, Biochem. Ztsch., *94*, 139 (1919). Chondroitinschwefelsäure: Neuberg, Biochem. Ztsch., *67*, 82 (1914). — **6**) Br. Kisch, Zentr. Bakt., I, *82*. 28 (1918). Wien. klin. Wochschr., *31*, Nr. 21 (1918). — **7**) L. Lutz, Bull. Soc. Bot. France, *50*, 118 (1903). — **8**) O. Loew, Zentr. Bakt., *9*, 659 (1891); *11*, 361 (1892). Biol. Zentr., *10*, 577 (1890). **9**) G. Loges, Landw. Vers.stat., *32*, 201 (1885). A. Dojarenko, Ebenda, *56*, 311 (1902). G. André, Compt. rend., *135*, 1353 (1902); *136*, 820 (1903); Koch, Jahresber. (1902), p. 478. O. Schreiner u. E. C. Shorey, Journ. biol. Chem., *8*, 381, 385 (1910). S. L. Jodidi, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 396 (1910); *33*, 1226 (1911; *34*, 94 (1912). — **10**) J. Nikitinsky, Jahrb. wiss. Botan., *37*, 365 (1902). — **11**) F. Münter, Zentr. Bakt., *36*, 365 (1913); *39*, 561 (1914). — **12**) A. Krainsky, Zentr. Bakt., *41*, 649 (1914). A. Fousek, Mitt. landw. Lehrk. Hochsch. Bodenkult. Wien, I, 217 (1913).

Anhangsweise sei auf Untersuchungen über die N-Versorgung von Myxomyceten hingewiesen. POTTS (1) studierte die Ernährung von Dictyostelium mucoroides (sowie des damit symbiontisch verbundenen Bacterium fimbriatum). Hier soll Ammoniumnitrat ausgezeichnet als N-Quelle geeignet sein, obgleich weder andere Nitrate noch andere Ammoniumsalze besonders gut wirkten. Aminosäuren sowie Eiweißstoffe werden assimiliert und sind treffliche N-Quellen, ebenso Harnsäure, weniger gut Hippursäure und Urethan.

§ 2.

Die Stickstoffversorgung der Sproßpilze.

Seit PASTEUR gezeigt hat, daß Hefen unter Darreichung von Ammoniumsalzen als N-Quelle ihr Gedeihen finden, wurde die Stickstoffernährung der Sproßpilze vielfach und gründlich untersucht (2). Trotzdem stehen noch manche Fragen offen. Wie BEIJERINCK (3) betonte, bevorzugen die Hefen ausgesprochen die Darreichung gesonderter N- und C-Quellen. Man kann zwar Wein- oder Bierhefe durch Asparagin allein als gemeinsame C- und N-Quelle ernähren, doch erreicht sie ihr volles Gedeihen unter vollständiger Ausnutzung der Nahrungsmaterialien erst in Asparagin-Zuckerlösung.

Albumosen, z. B. WITTE-Pepton, sind bekanntlich für Hefen eine treffliche Stickstoffnahrung (4). Wenn Albumin, Legumin u. a. native Proteinstoffe bei Hefe und Mycoderma in Versuchen von SCHULZ (5) ein schlechtes Resultat gaben, so lag dies offenbar daran, daß bei Anwendung fester Proteine das proteolytische Hefeenzym als Endoenzym nicht genügend in der Außenflüssigkeit wirken konnte, gelöste Proteine aber nur in ungenügender Menge in die Zellen eindringen (6). Auch die Selbstverdauungsprodukte der Hefe dienen anderen Heferassen ausreichend zur Ernährung (7).

Aminosäuren, die besonders im Asparagin sehr häufig in ihrem Nährwert für Hefe geprüft worden sind (8), bilden eine ausgezeichnete Stickstoffversorgung für Hefen. Außer Asparagin, welches als vorteilhaftes Zusatzmaterial zu Gärungsgemischen auch praktische Bedeutung gewonnen hat, sind nach den Befunden von LAURENT und BOKORNY Leucin, Glutamin, Glykokoll und Tyrosin sehr günstige N-Quellen, und nach HESS (9) wird durch gute N-Quellen, wie Pepton und Aminosäuren, auch die Invertinbildung stark gefördert. Nach WENT und PRINSEN GEERLIGS (10) bietet

1) G. POTTS, Flora (1902), Erg.bd., p. 281. — 2) Übersicht: F. LAFAR, Handb. techn. Mykol., *4*, 97 (1907). Weinhefe: H. BOTTU, La nutrition azotée de la Levure. Thèse Paris 1908. — 3) BEIJERINCK, Zentr. Bakt., *11*, 68 (1892). — 4) A. MAYER, Unters. über alkohol. Gär. (1869). Gär.chemie (1902), 5. Aufl., p. 134. TH. BOKORNY, Dingl polytechn. Journ. (1897); Zentr. Bakt., II, *9*, 674 (1902). — 5) A. SCHULZ, Justs Jahresber. (1877), p. 84. — 6) Über positive Ergebnisse mit Eidotterprotein: MACH, Ann. Önol., *4*, 372. — 7) P. LINDNER u. F. STOCKHAUSEN. Woch. Brau., *23*, 519 (1906). — 8) A. MAYER, BOKORNY, A. SCHULZ, BEIJERINCK, l. c. R. KUSSEROW, Brennereiztg., *14*, Nr. 318 (1897). KOCH, Jahresber. (1897), p. 84. C. SOLDAN, Ebenda (1898), p. 82. E. LAURENT, Ann. Pasteur, *3*, 362 (1889). Ann. Soc. Belg. Microsc., 14 (1890). DUCLAUX, Traité de Microbiol., *3*, 205. ZALESKI u. ISRAILSKY, Ber. dtsch. bot. Ges., *32*, 472 (1914). WATERMAN, Fol. Microbiol., *2*, 173 (1915). Assimilation von Guanin, Allantoin, Kreatin usw. durch Hefe: SCHULZ, l. c. RÖSLER u. BIALOBLOCKI, Ann. Önol., *1*, 55. H. LANGE, Woch. Brau., *16*, 49 (1899). Ferner EULER-LINDNER, Chemie der Hefe (1915), p. 228. SCHÖNFELD, Woch. Brau., *31*, 197 u. 345 (1914). — 9) FR. HESS, Kochs Jahresber. (1897), p. 105. — 10) F. A. WENT u. H. C. PRINSEN GEERLIGS, Zentr. Bakt., II. *1*, 505 (1895).

Saccharomyces Vordermanni analoge Verhältnisse wie Bier- und Weinhefe; nach MEISSNER (1) soll bei Kahmhefen Asparagin nicht besonders, nach SCHJERNING (2) bei Saccharomyces apiculatus und Carlsbergensis sogar überhaupt nicht verarbeitet worden sein. Nach den Befunden von EHRLICH (3) findet eine elektive Verarbeitung racemischer Aminosäuren durch Hefe statt, wobei die verbrauchte Komponente mit der im Eiweiß vorkommenden optisch-aktiven Modifikation identisch ist. Wie PRINGSHEIM (4) hervorhob, findet bei den Hefen eine ähnliche Bevorzugung der α-Aminosäuren statt, wie sie bei vielen Schimmelpilzen, vor allem Aspergillus niger, gefunden wird, und offenbar ist auch hier die in diesen Stoffen vorhandene Atomgruppierung · NH · CH · CO · von Bedeutung. Allescheria Gayoni gibt hingegen auf anderen Stickstoffquellen dieselben hohen Ernten wie auf Aminosäuren. Mit den durch EHRLICH sowie NEUBAUER und FROMHERZ entwickelten theoretischen Anschauungen über den Prozeß der Desamidierung von Aminosäuren durch gärende Hefe, wobei CO_2, NH_3, und der um 1 C ärmere Alkohol gebildet wird, ist es wohl vereinbar, daß die Nachbarstellung der Amino- und COOH-Gruppe einen Einfluß auf den Abbau hat. Doch hebt PRINGSHEIM (5) hervor, daß nur gärende Hefe Bernsteinsäure reichlich aus Glutaminsäure entstehen läßt, während nicht gärende Schimmelpilze, die geradeso die Aminosäure bevorzugen, bloß Spuren von Bernsteinsäure erzeugen. Bei der Sakéhefe liegen die Verhältnisse nach TAKAHASHI (6) analog.

Da Anhaltspunkte dafür vorhanden sind, daß die Desamidierung bei der Hefe ein Enzymprozeß ist (7), wird man vielleicht in Zukunft diesen wichtigen Fragen auf dem Wege der Fermentchemie näher treten können. Die Ansicht von EHRLICH (8), daß für die Hefe von den Aminosäuren nur das abgespaltene Ammoniak als N-Nahrung in Betracht kommt, und der C-Kern des Eiweiß nur von dem Nahrungszucker herzuleiten ist, begründet wohl den Konnex zwischen Wirkungsweise von Desamidase und Aminosäurestruktur, bleibt aber die endgiltige Antwort in betreff der Tatsache schuldig, daß Aminosäuren als N-Nahrung bei Hefen und vielen Schimmelpilzen Ammoniumsalzen überlegen sind.

Bezüglich der N-Versorgung durch Säureamide differieren die Resultate. LAURENT fand Acetamid wie Formamid untauglich, während MACH Acetamid brauchbar fand. Harnstoff, welcher von BEIJERINCK als für Hefe unbrauchbar angegeben worden war, ist nach älteren Untersuchungen von MAYER, nach Feststellungen für Mycoderma von SCHULZ, für Saccharomyces Vordermanni durch WENT und PRINSEN GEERLIGS, und nach den neueren Angaben für Preßhefe durch BOKORNY, LINDNER und WÜST (9) sicher eine allgemein von Hefe verwendbare Stickstoffnahrung. Willia anomala gedeiht nach EHRLICH und LANGE (10) auf Harnstoff allein nicht, wohl aber gut, wenn gleichzeitig Harnstoff und Glykolsäure dargereicht werden, und bringt dann die Glykolsäure zum Verschwinden. Besonders beachtenswert ist die Angabe von THOMAS (11), wonach Hefe bei Harnstoff-

1) R. MEISSNER, Ztsch. Gär.physiol., *3*, 113 (1913). — Torulaceen: H. WILL, Zentr. Bakt., II, *46*, 226 (1916). — 2) H. SCHJERNING, Compt. rend. Carlsberg, *9*, 381 (1913). — 3) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *1*, 8 (1906). Zentr. Bakt., II, *21*, 257 (1908). — 4) H. PRINGSHEIM, Biochem. Ztsch., *3*, 121 (1907); *8*, 119 (1908); Ber. chem. Ges., *39*, 4048 (1906). — 5) H. PRINGSHEIM, Woch. Brau., *27*, 222 (1910). — 6) T. TAKAHASHI u. YAMAMOTO, Journ. Agr. Tokyo 1911, I, 275. — 7) J. EFFRONT, Compt. rend., *146*, 779 (1908). — 8) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *36*, 477 (1911). — 9) P. LINDNER u. G. WÜST, Woch. f. Brau., *30*, 477 (1913). TH. BOKORNY, Biochem. Ztsch., *81*, 219; *82*, 359 (1917); *83*, 133 (1917); Münch. med. Wochschr., *63*, 791 (1916); Chem.-Ztg., *40*, 366 (1916); Allg. Brau.- u. Hopf.-Ztg., *56*, 957 (1916). — 10) F. EHRLICH u. LANGE, Ber. chem. Ges., *46*, 2746 (1913). — 11) P. THOMAS, Compt. rend., *133*, 312 (1901).

darreichung in 10% Zuckerlösung nur schwach, in 20% Zuckerlösung aber kräftig gedeiht. Für Ammoniumbicarbonat ergaben sich ähnliche Verhältnisse und weitere Versuche zeigten, daß gleichzeitige Darreichung von Ammoniak-N die Verarbeitung anderweitiger sonst nicht guter N-Quellen deutlich unterstützt. Vielleicht hängt dies mit der Säurebildung auf manchen Substraten zusammen. Jedenfalls hat man solche Möglichkeiten zu beachten, wenn man verschiedene N-Verbindungen hinsichtlich ihrer Nährtauglichkeit prüft. Widersprüche bezüglich der Verwendbarkeit einzelner Alkylamine zwischen LAURENT und BOKORNY dürften sich in ähnlicher Weise aufklären lassen. Auch bezüglich des Betains, welches STANĚK unbrauchbar (1), hingegen EHRLICH und LANG unter Bildung von Glykolsäure verarbeitet fanden, bestehen solche Beobachtungsdifferenzen. Auch dürften, wie LAURENT schon angab, einzelne Alkaloide unter bestimmten Bedingungen brauchbar sein, während negative Resultate, wie bei BOKORNY, FERMI und POMPONI, CHARPENTIER (2), nicht unter allen Umständen sich ergeben müssen. Kein einziges Pflanzenalkaloid scheint sich übrigens als sehr giftig erwiesen zu haben, so daß erst 5% Strychninchlorhydrat tötete, 5% Morphin und 0,3% Cocain aber noch keinen Einfluß ausübten. FERMI fand 0,5% Nicotin oder 5% Chinin tödlich. Entschieden giftig wirken Cyanwasserstoff, noch mehr Dicyan (O. LOEW und TSUKAMOTO) (3), ferner Azoimidsulfat nach LOEW (4) und Hydrazin (Diamid). Sehr viele Angaben über den Nährwert verschiedener Stoffe als N-Quelle für Hefe finden sich bei WATERMAN (5).

A. MAYER hat 1869 zuerst darauf hingewiesen, daß Nitrate von Hefe im Gegensatze zu Ammoniumsalzen sehr schlecht ausgenutzt werden, und SCHULZ fand dasselbe für Mycoderma. Dasselbe Ergebnis lieferten die späteren Untersuchungen von LAURENT und von BEIJERINCK. Nach dem letztgenannten Forscher sind Nitrate nur für manche Arten, Nitrite aber für gar keine Sproßpilze verwendbar. LAURENT (6), der auf die Reduktion der Nitrate zu Nitrit bei Hefe aufmerksam machte, hat die Frage aufgeworfen, ob die Nitrate nicht durch eine in der Zelle stattfindende Reduktion zu Nitrit schädlich wirken. EVANS (7) meinte diese Ansicht ablehnen zu dürfen, doch kommt in Hefepreßsaft tatsächlich ein nitratreduzierendes Enzym vor. Nach FERNBACH und LANZENBERG begünstigen Nitrate wohl die Gärfähigkeit der Hefe, schädigen aber das Wachstum mit steigernder Konzentration immer mehr (8). KAYSER (9) fand, daß Mangannitrat Gärung noch mehr begünstigt als Kalisalpeter. Ammoniumsalze wirken bekanntlich sehr günstig auf Hefe, und man kann in Fällen von N-Mangel die Gärung außerordentlich steigern, wenn man Ammoniumsulfat zusetzt (10). Wie sehr es manchmal auf das Anion der Ammoniumsalze ankommt, geht u. a. aus den Untersuchungen von MEISSNER (11) an Kahmhefen hervor,

---

1) VL. STANĚK u. O. MISKOVSKÝ, Ztsch. ges. Brauwes., *30*, 566 (1907). F. EHRLICH u. LANGE, Ztsch. Ver. Zuck. Ind., *64*, 158 (1914) für Willia anomala. — 2) CL. FERMI u. E. POMPONI, Zentr. Bakt., II, *2*, 577 (1896). A. CHARPENTIER, Soc. Biol., *17*, 83 (1885). — 3) O. LOEW u. TSUKAMOTO, Zentr. Bakt., II, *1*, 377 (1895). — 4) O. LOEW, Ber. chem. Ges., *23*, 3203 (1890); *24*, 2947 (1891). — 5) H. J. WATERMAN, Fol. Microbiol., *2*, Heft 2 (1913). Fermentative Spaltung N-haltiger Glucoside: NEUBERG u. FÄRBER, Biochem. Ztsch., *78*, 264 (1916). — 6) E. LAURENT, Ann. Inst. Pasteur, *3*, 362 (1889). Rec. Inst. Botan. Bruxelles, *2*, 1, 11, 33, (1906). — 7) EVANS, Kochs Jahresber. (1896), p. 92. A. KOSSOWICZ, Biochem. Ztsch., *67*, 400 (1914). — 8) A. FERNBACH u. A. LANZENBERG, Compt. rend., *151*, 726 (1910). — 9) E. KAYSER, Ebenda, *15*, 816 (1910). — 10) R. MARCILLE, Arch. Inst. Pasteur Tunis (1913), p. 94; BOKORNY, Allg. Brau.- u. Hopf.-Ztg., *54*, 97 (1914). — 11) R. MEISSNER, Ztsch. Gär.phys., *3*, 113 (1913).

welche Ammoniumphosphat besser vertragen als Nitrat und mit Tartrat nur schlecht gedeihen.

§ 3.

Stickstoffversorgung und Eiweißsynthese bei höheren Pilzen.

Die Erfahrungen, welche bisher über die Stickstoffernährung von Pilzen (von Saccharomyces abgesehen) vorliegen, betreffen nur relativ wenige Arten aus den Reihen von Saprolegnia, Mucor, Basidiobolus, Conidienformen von Ascomyceten wie Penicillium, Aspergillus, Botrytis, Ustilago und vereinzelte andere Formen, und geben kaum das Recht, ein Urteil von umfassender Geltung für die Mehrzahl der Pilze abzugeben. Soweit bekannt, gilt für die Pilze ebenfalls das Gesetz, daß N-Verbindungen ihren vollen Nährwert erst dann entfalten, wenn ihnen gleichzeitig eine gut taugliche C-Quelle beigesellt wird, vor allem erst in Gegenwart von Zucker. So entwickelte Aspergillus niger (1) in der gleichen Zeit und unter den gleichen Bedingungen, da er auf 3 % Rohrzucker und 1 % Asparagin 600 mg Trockensubstanz erzeugte, auf 4 % Asparagin allein nur 20 mg Trockensubstanz. Man kann mit WATERMAN (2) dieses Verhältnis durch die N-Zahl (N : 100 Teilen assimil. C) illustrieren. Von dem Einflusse der C-Quelle auf die Ausnutzung gleichzeitig dargereichten Asparagins (1 %), auf die N-Ausnützung und die Trockengewichtszunahme gibt nachfolgende Tabelle Aufschluß.

C-Quelle	Trockengewicht der Pilzernte	Von 100 Teilen Asparagin-N ausgenutzt
Methylal	53,5 mg	6,05 Teile
Äthylenglykol	74,3 „	8,39 „
Glycerin	288,6 „	32,6 „
Erythrit	323,8 „	36,58 „
l-Arabinose	350,0 „	39,55 „
l-Xylose	512,7 „	57,9 „
d-Fructose	523,7 „	59,17 „
Inulin	619,6 „	70,0 „
Glucoheptose	35,4 „	4,0 „
d-Gluconsäure	253,8 „	23,5 „
Quercit	325,0 „	36,7 „

Zahlreiche andere Daten sind an dem angeführten Orte zu ersehen. Daß sowohl Proteosen, z. B. WITTES Pepton, als die bei der Eiweißhydrolyse entstehenden Aminosäuren eine ausgezeichnete N-Nahrung für die Pilze ergeben, geht wohl aus allen einschlägigen Untersuchungen hervor, und ich versuchte zu zeigen, daß bei Aspergillus bei diesen Aminosäuren nur relativ geringe Unterschiede in der Wirksamkeit bestehen. Dies ergab sich u. a. auch für Soorpilz nach LINOSSIER und ROUX (3), für Rhizopus Oryzae nach WENT und PRINSEN GEERLIGS (4), für Cladosporium, Hormodendron, Dematium nach SCHOSTAKOWITSCH (5), für Basidiobolus ranarum nach RACIBORSKI (6), für Mucor proliferus nach SCHOSTAKO-

1) F: CZAPEK, Hofmeist. Beitr., *1*, 538; *2*, 557; *3*, 47 (1902). — Zusammenstellung über N-Versorgung bei Pilzen: LAFAR, Handb., *1*, 401 (1907). — 2) H. J. WATERMAN, Proceed. Akad. Amsterdam, 30. Mai 1913; ebenda, *19*, 215 (1916). Chem. Weekbl., *15*, 599 (1918). — 3) G. LINOSSIER u. ROUX, Compt. rend., *110*, 355 (1890). — 4) F. A. WENT u. H. C. PRINSEN GEERLIGS, Zentr. Bakt., II, *1*, 505 (1895). — 5) W. SCHOSTAKOWITSCH, Flora (1895), Erg.bd., p. 362. — 6) M. RACIBORSKI, Ebenda (1896), p. 107.

WITSCH (**1**), Mucor Rouxii nach NIKOLSKI (**2**), Thamnidium elegans nach BACHMANN (**3**), Sporodinia grandis und Saprolegnia mixta nach KLEBS (**4**). Hierzu kommen noch neuere Arbeiten von TRAAEN über verschiedene Bodenpilze, von BOBILIOFF-PREISSER über Oospora, von BRONSART über die Ernährung einiger Xylaria-Arten und von LEININGER über Cyathus striatus (**5**). Die Eignung von Asparagin ist besonders durch NAKAMURA (**6**) geprüft, Leucin und Tyrosin durch LUTZ (**7**). Die Angabe von HERZBERG (**8**), wonach Asparagin für einzelne Ustilago-Formen unverwendbar ist, bezieht sich nur auf zuckerfreie Nährlösungen, und bei Gegenwart von Zucker dürften auch alle Ustilago-Arten Proteosen und Aminosäuren ausgezeichnet ausnützen können.

Die auffallende Eignung der Aminosäuren als N-Nahrung für Aspergillus niger ist auch aus neueren Versuchen von LUTZ (**9**) und von PURIEWITSCH (**10**) zu ersehen. EMMERLING (**11**) hat den sehr erwünschten Nachweis geführt, daß die β- und γ-Aminosäuren nicht die gleiche hohe Eignung zeigen, wie die bei der Eiweißspaltung allein entstehenden α-Aminosäuren. Ferner spielt die Stereoisomerie der Aminosäuren eine Rolle. SCHULZE und BOSSHARD, ferner MENOZZI und APPIANI fanden (**12**), daß bei Kultur von Penicillium auf racemischem Leucin oder auf i-Glutaminsäure die rechtsdrehende Modifikation verbraucht wird, während die linksdrehende Modifikation zurückbleibt. FISCHER (**13**) konstatierte, daß Schimmelpilze aus d, l-Alanin nur das d-Alanin verarbeiten, und EHRLICH (**14**) hat weitere Tatsachen auf diesem Gebiete bekannt gemacht. Bezüglich der Verarbeitung von Polypeptiden durch Schimmelpilze liegen Angaben von ABDERHALDEN und TERUUCHI (**15**) vor, welche einer Erweiterung bedürfen, nachdem es voraussichtlich nicht nur geeignete Peptide geben dürfte.

In meinen erwähnten Arbeiten ist weiter ausgeführt, wie die aromatischen Aminosäuren: Anthranilsäure, m- und p-Aminobenzoesäure, welche die NH_2-Gruppe in der Gruppierung $\begin{matrix}=C\\-C\end{matrix}\!\!>\!C\cdot NH_2$ enthalten, unvergleichlich schlechter ausgenützt werden als aliphatische α-Aminosäuren. So gab

---

1) SCHOSTAKOWITSCH, Flora (1897), Erg.bd., p. 88. Erdmucorineen: O. HAGEM, Vidensk Selsk. Skrip., I, 1910, Nr. 4. Christiania 1910. — **2**) M. NIKOLSKI, Zentr. Bakt., II, *12*, 667 (1904). — **3**) J. BACHMANN, Botan. Ztg. (1895), p. 107. — **4**) G. KLEBS, Beding. d. Fortpflanz. b. einigen Algen u. Pilzen (1896). Jahrb. wiss. Bot., *32*, 23 u. 36 (1898); *33* (1899). — **5**) A. E. TRAAEN, Nyt. Mag. Naturvid. Christiania 1914; SCHREINER u. SKINNER, U. S. Dep. Agr. Bur. of Soils, Bull., *87*, p. 1 (1912); W. BOBILIOFF-PREISSER, Zentr. Bakt., II, *46*, 390 (1916); BRONSART, Ebenda, *49*, 51 (1919); H. LEININGER, Ber. bot. Ges., *33*, 288 (1915). — **6**) P. NAKAMURA, Coll. Agr. Tokyo, *2*, 468 (1897). — **7**) L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *52*, 95 (1905). Nach R. O. HERZOG u. SALADIN, Ztsch. physiol. Chem., *73*, 302 (1911) wird von Penicillium bei Leucinfütterung mehr CO_2 ausgeschieden als dem Leucin entspricht (?). Leucinverarbeitung im Tierkörper: v. NOORDEN u. EMBDEN, Zentr. Physiol. d. Stoffwechs., I, 2 (1906). — **8**) P. HERZBERG, Zopfs Beitr. (1895); vgl. auch die Angaben über Phoma betae bei SCHANDER u. W. FISCHER, Landw. Jahrb., *48*, 717 (1915). — **9**) L. LUTZ, Compt. rend., *140*, 665 (1905); Bull. Soc. bot., *52*, 159 (1905). — **10**) K. PURIEWITSCH, Biochem. Ztsch., *38*, 1 (1911); auch ABDERHALDEN u. TERUUCHI, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 394 (1906). ZALESKI u. PJUKOW, Ber. bot. Ges., *32*, 479 (1914). A. KOSSOWICZ, Biochem. Ztsch., *67*, 391 (1914). W. BRENNER, Zentr. Bakt., II, *44*, 304 (1915). — **11**) O. EMMERLING, Ber. chem. Ges., *35*, 2289 (1902). — **12**) E. SCHULZE u. BOSSHARD, Ebenda, *18*, 388 (1885). SCHULZE u. LIKIERNIK, Ebenda, *24*, 669 (1891). A. MENOZZI u. G. APPIANI, Chem. Zentr. (1894), I, 463. — **13**) E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *32*, 2451 (1899). — **14**) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *1*, 8 (1906). Für den tierischen Stoffwechsel vgl. J. WOHLGEMUTH, Ber. chem. Ges., *38*, 2064 (1905). ABDERHALDEN u. SAMUELY, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 347 (1906). — **15**) ABDERHALDEN u. TERUUCHI, Ebenda, *47*, 394 (1906).

m-Aminobenzoesäure 80 mg, die Paraverbindung 28,4 mg, die Anthranilsäure nur 7 mg Pilzernte. Daher liegt es nahe, auch bei den Schimmelpilzen der Gruppierung NH · ĊH · CO · eine besondere Rolle in der Eiweißsynthese zuzuschreiben. Diese Meinung wird dadurch bestätigt, daß das Benzylamin ⬡—CH_2NH_2 dem Anilin ⬡—NH_2 bedeutend an Nährwert überlegen ist. Von einschlägigem Interesse ist es ferner, daß Acetamid CH_3 · CO · NH_2 sich für Aspergillus in meinen Versuchen als gute N-Quelle erwies; doch hat Hagem (1) für Erdmucorarten keine derartige günstige Wirkung beobachten können. Ferner erscheint es für die theoretische Auffassung der Biosynthese der Aminosäuren beachtenswert, daß die aliphatischen Amine, welche durch CO_2-Abspaltung aus Aminosäuren hervorgehen, ihrerseits in den allermeisten Fällen bei normalgebauter Kohlenstoffkette gute Nährstoffe sind (2). Es darf auch nicht unbeachtet bleiben, daß oxyfettsaure Ammoniumsalze, die gleichfalls in nahe genetische Beziehungen zu den Aminosäuren gebracht werden können, nach meinen Erfahrungen auffallend gute Stickstoffnahrung bieten (3). Ein definitives Urteil über die biosynthetische Aminosäurebildung durch Pilze läßt sich heute kaum fällen. Im Gegensatze zur älteren Anschauung, wo man der Eiweißaufnahme eine alleinherrschende Rolle zuteilte, geht man derzeit, wie die Arbeiten von Raciborski, Ehrlich, Hagem, Boas zeigen (4), wieder anscheinend viel zu weit mit der Meinung, daß alle dargereichten Aminosäuren nur ihr Ammoniak hergeben müssen, um Eiweißbildung zu ermöglichen und ihre Kohlenstoffketten keine weitere Bedeutung haben. Sonst wäre es ganz unverständlich, warum oxyfettsaure Ammoniumsalze so deutlich bessere Eignung besitzen. Hier dürfte das Studium der fermentativen Desamidierung verschiedener N-Verbindungen am ehesten geeignet sein, Fortschritte in der Einsicht zu vermitteln.

Die meisten Säureamide sind schlechte Nährstoffe. Noch mehr gilt dies von Säurenitrilen, wenn sie auch, wie das Phenylglykolsäurenitril, im Amygdalin bis zu einem gewissen Grade brauchbar sind (5). Harnstoff ist für die untersuchten Pilze unter die guten N-Quellen zu rechnen (6); doch deuten verschiedene Angaben in der Literatur darauf hin, daß es Umstände gibt, unter denen das Gegenteil der Fall ist (7). Auch Dimethylharnstoff, Biuret, Äthylurethan und Guanidin (8) sind nach eigenen Erfahrungen gute Nährstoffe für Aspergillus. Die Möglichkeit der Verarbeitung von Cyanamid ist für eine ganze Reihe von Pilzformen sichergestellt (9); nach Kappen soll intermediär Harnstoff auftreten. Kossowicz hat darauf

---

1) O. Hagem, Vid. Selsk. Christiania 1910, Nr. 4. — 2) Czapek, l. c. L. Lutz, Rech. sur la nutrit. des végétaux à l'aide de substanc. azotées. Thèse Paris (1898), p. 79. Bull. Soc. Bot., *52*, 194 (1905). — 3) Man beachte, daß auch der von W. Löb, Biochem. Ztsch., *60*, 159 (1914) beobachtete Übergang von Oxalsäure + NH_3 unter dem Einflusse stiller elektrischer Entladung zu Aminoessigsäure sich über Glyoxylsäure und Oxyaminoessigsäure vollstreckt. — 4) M. Raciborski, Bull. Acad. Sci. Cracovie, Octob. 1906. F. Ehrlich, Biochem. Ztsch., *36*, 477 (1911). O. Hagem, l. c. 1910. F. Boas, Biochem. Ztsch., *86*, 110 (1918). — 5) Czapek, l. c. L. Lutz, Bull. Soc. Bot., *52*, 159, 194 (1905). Verarbeitung von Amygdalin ohne Spaltung: Waterman, Proceed. Akad. Amsterdam, *19*, 922 u. 987 (1917). — 6) A. Kossowicz. Ztsch. Gär.physiol., *1*, 60 (1912); *2*, 51 (1912); ebenda, p. 81; F. A. Mc Dermott, Mycol. Zentr., *3*, 159 (1913). Boas, Ann. Mycol., *16*, 229 (1918). — 7) Vgl. Bokorny, Chem.-Ztg., *20*, 69 (1896). Diakonow, Ber. bot. Ges., *4*, 386 (1887). — 8) Guanidin: J. Kawakita, Bull. Agric. Coll. Tokyo, *6*, 181 (1904). Kossowicz, Ztsch. Gär.physiol., *2*, 84 (1912). — 9) H. Kappen, Zentr. Bakt., II, *26*, 633 (1910); Fr. Reis, Biochem. Ztsch., *25*, 477 (1910). A. Kossowicz, Ztsch. Gär.physiol., *1*, 124 (1912); *2*, 154 (1913).

aufmerksam gemacht, daß Penicillien, Aspergillus, Isaria, Cladosporium negative Ergebnisse bei Darreichung von Cyanamid aufweisen. Die Ureide Hydantoin, Allantoin, Methyluracil, Parabansäure, Oxalur-, Barbitur- und Dialursäure, ferner Alloxan und Harnsäure, wirken noch besser als Harnstoff. Coffein wird von Aspergillus nur wenig, Hippursäure (1) wohl allgemein verwendet. Verarbeitung von Cholin durch Oidium lactis hat RUCKERT (2) beobachtet.

Die günstige Wirkung der Ammoniumsalze hängt, wie ich bei Aspergillus sah, und spätere Arbeiten in anderen Fällen sichergestellt haben (3), sehr von der Natur des Anions ab. Man kann als Regel aufstellen, daß die Ammoniumsalze starker Säuren infolge baldigen Eintrittes schädlicher H-Ionenkonzentration weniger gut geeignet sind als die Salze schwacher Säuren. Besonders in den ersten Entwicklungsstadien sind die Pilzkulturen gegen die beginnende Ansäuerung sehr empfindlich. Wenn man, wie es NIKITINSKY tat, durch Zusatz von Calciumcarbonat dafür sorgt, daß die saure Reaktion ein gewisses Maß nicht überschreitet, so erzielt man auch mit Chlorammonium dieselben günstigen Effekte wie etwa mit Ammoniumtartrat. Ebenso kann man durch Zusatz eines Ammoniumsalzes mit leicht assimilierbarem Anion, wie es das Tartrat ist, den Pilz vor dem Einflusse der steigenden Acidität in ammoniumchloridhaltiger Nährlösung schützen. Auf Ammoniumacetat wächst Aspergillus wohl infolge der hydrolytischen Spaltung schlecht (4). Ammoniumoxalat ist für Aspergillus sehr gut geeignet. Über einige auffällige formative Wirkungen, die nach Darreichung von Ammoniumnitrat auftreten, hat TANRET (5) berichtet. Gut wirken phosphorsaures und glycerinphosphorsaures Ammonium. Bei Kahmhefen fand MEISSNER (6) in Gegensatz zu anderweitigen Erfahrungen Ammoniumtartrat schlecht geeignet.

Hydroxylamin sowie dessen Sulfosäure wurden von SUZUKI und von LUTZ (7) als unbrauchbar bezeichnet, desgleichen von LOEW (8) die Amidosulfonsäure. Doch hat RACIBORSKI mit Hydroxylamin gewisse Nähreffekte zu erzielen vermocht, ebenso mit Hydrazin; Methylhydrazin ist auch in meinen Versuchen als mäßig gute N-Quelle für Aspergillus erkannt worden. Bezüglich der Ernährung von Pilzen mit Nitrat (9) hat bereits LAURENT richtig hervorgehoben, daß die einen Formen mit Ammoniumsalzen besser gedeihen als mit Nitraten, während andere keinen Unterschied machen oder selbst Nitrate vorziehen. Aspergillus niger wuchs in meinen Versuchen in KNO_3 besser als in Ammoniumsulfat, aber schlechter als in Ammoniumphosphat. Möglicherweise hängt die Fähigkeit, Nitrate zu verarbeiten,

---

1) DOX u. NEIDIG, Ztsch. physiol. Chem., *85*, 68 (1913); MC DERMOTT, Mycol. Zentr., *3*, 159 (1913). — 2) A. RUCKERT, Arch. Pharm., *246*, 676 (1908). — 3) C. TANRET, Bull. Soc. Chim. (3), *17*, 914 (1897). J. NIKITINSKY, Jahrb. wiss. Bot., *40*, 15 (1904). W. BRENNER, Ber. bot. Ges., *29*, 479 (1911). Für Hypocrea rufa: M. MEDISCH, Jahrb. wiss. Bot., *48*, 591 (1910). G. RITTER, Ber. bot. Ges., *27*, 582 (1909). L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *52*, 159, 194 (1905). O. LOEW, Hofmeist. Beitr., *4*, 249 (1903). C. WEHMER, Ber. bot. Ges., *31*, 210 (1913); Biochem. Ztsch., *59*, 63 (1914). W. BRENNER, Zentr. Bakt., II, *40*, 555 (1914). FR. BOAS u. H. LEBERLE, Biochem. Ztsch., *90*, 78 (1918); ebenda, *86*, 110 (1918). WOELTJE, Ber. bot. Ges., *32*, 544 (1914); Centr. Bakt., II, *48*, 97 (1918). — 4) Vgl. auch SCHROEDER, Kochs Jahresber. (1902), p. 97. — 5) C. TANRET, Compt. rend., *123*, 948 (1896). — 6) R. MEISSNER, Ztsch. Gär.physiol., *3*, 113 (1913). — 7) S. SUZUKI, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *5*, 491 (1903); L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *52*, 194 (1905). — 8) O. LOEW, Chem. News, *74*, 277 (1896). MAENO, Chem. Zentr. (1897), I, 936. — 9) Hierzu: RITTER, Biochem. Ztsch., *60*, 270 (1914). „Katalytische Wirkung" von KNO_3 auf die Alkoholgärung durch Aspergillus: MOLLIARD, Compt. rend., *163*, 570 (1916).

irgendwie mit der Fähigkeit zusammen, dieselben zu Nitrit und Ammoniak zu reduzieren. Nach den vorliegenden Erfahrungen (1) sind die Nitrat verarbeitenden Schimmelpilze ganz allgemein dazu befähigt Nitrit zu bilden, und es besteht darüber auch kein Zweifel, daß Nitrite von Schimmelpilzen verarbeitet werden, unter Reduktion zu Ammoniak, welches allerdings nicht immer nachgewiesen werden konnte (2).

Nach BOKORNY (3) wird auch Trinitrocellulose verarbeitet. Ich sah ferner Aspergillus schwach auf Nitromethan wachsen. Rhodannatrium ist gleichfalls bis zu einem gewissen Grade verwertbar (4), und KOSSOWICZ beobachtete, daß manche Pilzformen auf diesem Substrate Schwefelwasserstoff bilden. In manchen Fällen sind selbst die giftigen Senfölglucoside, wie Sinigrin, den Pilzen in geringem Maße als Nahrung zugänglich (5) (Schimmelpilze und Monilia). Eine geringe N-Aufnahme ist sodann möglich aus Ferricyankalium und Nitroprussidnatrium, hingegen gar keine bei Darreichung von Ferrocyankalium, Äthaldoxim und Acetoxim.

In meinen zitierten Arbeiten finden sich ferner eingehendere Darstellungen der Möglichkeit, aromatische N-Verbindungen zu verarbeiten. Besonders die mehrfach hydroxylierten Derivate, wie gallussaures Ammonium, ragen hier durch ihren Nährwert hervor. Zu prüfen wäre, ob die im Tierkörper mögliche Reduktion von Nitrobenzol (6) auch im Pilzorganismus bewerkstelligt werden kann (Bildung von p-Aminophenol). Gärende Hefe reduziert nach NEUBERG (7) Nitrobenzol beträchtlich; reichliche Bildung von Anilin wurde in keinem Falle vermißt. Theoretisch wichtig ist die hohe Eignung der hydrierten Benzolkörper, so daß chinasaures Ammonium, allein als C- und N-Quelle dargereicht, bei Aspergillus in seiner Wirkung den Zuckerarten näher kam als irgend eine aliphatische oder aromatische Verbindung.

Brenzschleimsäure, α-Furancarbonsäure: $\begin{matrix} CH:C(COOH) \\ \vdots \quad \vdots \\ CH:CH \end{matrix} \!\!> O$ in Form ihrer Glykokollverbindung: Pyromucursäure, dargereicht, wird von Schimmelpilzen nach DOX und NEIDIG verwertet (8). Die Spaltung entspricht jener der Hippursäure.

Daß der Pyridinring in manchen Fällen relativ leicht durch die Stoffwechseltätigkeit der Pilze gesprengt werden kann, lehren meine günstigen Resultate mit nicotinsaurem Natron bei Aspergillus. Bekannt ist auch die Ansiedelung von Pilzmycelien in Chininlösungen (9). Über Verarbeitung von Pyridinbasen und von Alkaloiden durch Pilze hat u. a. LUTZ (10) nähere Mitteilungen gemacht, worin ausgeführt wird, daß allgemein keine direkte Verarbeitung dieser Stoffe durch Aspergillus stattfindet, wohl aber bei gleichzeitiger Darreichung einer anderen guten N-Quelle. Aspergillus niger greift nach FRIEDRICHS (11) Narkotin und Kodein an, Morphin nicht. EHR-

---

1) G. E. RITTER, Ber. bot. Ges., *29*, 570 (1911). O. HAGEM, Vid. Selsk. Skrift. Christiania 1910. Nitratverarbeitung: O. LOEW, Chem.-Ztg., *36*, 57 (1912); RITTER, Ber. bot. Ges., *27*, 582 (1909). A. BLOCHWITZ, Zentr. Bakt., *39*, 497 (1913). — 2) M. RACIBORSKI, Bull. Acad. Sci. Cracovie, Octob. 1906. A. KOSSOWICZ, Ztsch. Gär.physiol., *2*, 55 (1912); *3*, 321 (1913). — 3) TH. BOKORNY, Chem.-Ztg., *20*, 985 (1896). — 4) CZAPEK, l. c. A. FERNBACH, Compt. rend., 7. Juli 1902. J. H. KASTLE u. E. ELVOVE, Am. Chem. Journ., *31*, 550 (1904). A. KOSSOWICZ u. L. v. GRÖLLER, Ztsch. Gär.physiol., *2*, 58 (1912). — 5) MOSTYNSKY, Kochs Jahresber., *12*, 72 (1901). A. KOSSOWICZ, Ztsch. landw. Ver.Wes. Österr., *8*, 645 (1905). — 6) ER. MEYER, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 497 (1906). — 7) NEUBERG u. WELDE, Biochem. Ztsch., *60*, 472 (1914). — 8) A. W. DOX, u. R. E. NEIDIG, Biochem. Bull., *2*, 407 (1913). — 9) Vgl. F. HEIM, Bull. Soc. Mycol., *9*, 239 (1893). — 10) L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *50*, 118 (1904); ebenda, *52*, 194 (1905). Bot. Zentr., *93*, 222 (1903). — 11) O. v. FRIEDRICHS, Ztsch. physiol. Chem., *93*, 276 (1914).

LICH (1) erhielt positive Erfolge mit Pyridin, Piperidin, Coniin, Nicotin, Cinchoninsäure, Chinin, Brucin und Morphin.

§ 4.

Die bacterielle Harnstoffspaltung (Harnstoffgärung) (2).

Die überall, wo harnstoffreiche tierische Materialien sich anhäufen, reichlich stattfindende Zersetzung des Harnstoffes in kohlensaures Ammonium wurde bereits von älteren Chemikern, wie VAUQUELIN und JAQUEMART untersucht (3). DUMAS (4) zog 1830 den richtigen Schluß, indem er sagte, Harnstoff stehe zum Ammoniumcarbonat in demselben chemischen Verhältnis wie Oxamid zum Ammoniumoxalat. LIEBIG (5) dachte zuerst an den fermentativen Charakter der Harnstoffgärung, doch wurde der biologische Charakter der natürlichen Harnstoffspaltung erst 1860 durch PASTEUR (6) erkannt. In der Folge beschäftigten sich mit den Mikroben der Harnstoffgärung MUSCULUS, VAN TIEGHEM, MIQUEL, v. JAKSCH, LEUBE und BEIJERINCK (7). MIQUEL beschrieb 17 in der Natur an der Harnstoffgärung beteiligte Formen, die er in die Gattungen Urobacillus, Urococcus und Urosarcina einreihte. Nach der Bearbeitung der Harnstoffbacterien durch VIEHOEVER (8) scheint es aber, als ob mehrere der am meisten verbreiteten Formen, wie Urobacillus Pasteurii, Urobacillus Leubei und Bacillus Pasteurii, vielleicht noch einige andere Formen zu einer einzigen Art zu vereinigen wären, für welche der Namen Bac. probatus vorgeschlagen worden ist. BEIJERINCK (9) erwarb sich um die Methodik der Isolierung dieser Mikroben durch elektive Züchtung und Anhäufung, und um die Kenntnis wichtiger neuer Harnstoffbacterien große Verdienste. Es ist eine biologisch überaus interessante Gruppe von Organismen, die in der Natur allenthalben verbreitet vorkommen, und bei ihrem Wachstum auf Hefewasser-Harnstoff-Gelatine leicht kenntlich sind, indem die einzelnen Kolonien sich mit einem Hofe aus Calciumcarbonat und Phosphatniederschlägen umgeben, welche schöne NEWTONsche Farbenringe zeigen („Aureole" und „Iriserscheinung"). Sobald der Gehalt des Substrates an Ammoniumcarbonat ein Maximum überschritten hat, welches relativ bald erreicht ist, stellen die Bacterien ihr Wachstum ein. Durch Beseitigung des gebildeten Ammoniumcarbonates kann man

---

1) F. EHRLICH, Biochem. Ztsch., *79*, 152 (1917). Bezüglich Pyridin hatte BOKORNY, Zentr. Bakt., II, *47*, 334 (1917) Nichteignung angegeben. — 2) Monographien: P. MIQUEL, Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 71 (1904). A. VIEHOEVER, Zentr. Bakt., *39*, 209 (1913). C. OPPENHEIMER, Die Fermente, 3. Aufl. — 3) VAUQUELIN, Ann. Chim. et Phys. (2), *25*, 423 (1824). JAQUEMART, Ebenda (3), *7*, 149 (1843). — 4) J. DUMAS, Ebenda (2), *44*, 273 (1830). — 5) J. v. LIEBIG, Chem. Briefe, p. 15. — 6) PASTEUR, Compt. rend., *50*, 849 (1860). PASTEUR u. JOUBERT, Ebenda, *83*, 5 (1876). — 7) MUSCULUS, Ebenda, *82*, 333 (1876). VAN TIEGHEM, Ebenda, *52*, 210; *58*, 210 (1864). MIQUEL, Bull. Soc. Chim., *31*, 391; *32*, 126; Compt. rend., *111*, 397; Ann. micrograph., *3* (1891); *5*, 162 u. 322 (1893); *7*, 49 (1895); *8*, 55 (1896); *9*, 302 (1897). v. JAKSCH, Ztsch. physiol. Chem., *5*, 395. LEUBE, Virch. Arch., *100*, 540 (1885). LEUBE u. GRASER, Sitz.ber. Erlangen (1885), p. 12. L. MOLL, Hofmeist. Beitr., *2*, 344 (1902). — 8) A. VIEHOEVER, Ber. botan. Ges., *31*, 285 (1913). Zentr. Bakt., *39*, 209 (1913). Frühere Angaben über verschiedene Harnstoffbacterien: A. LADUREAU, Compt. rend., *99*, 877 (1884). HALLÉ, Justs Jahresber. (1894), I, 493 für Bact. coli; Zopfs Beitr., I (1892); LUNDSTRÖM, Kochs Jahresber. (1891), p. 260 (Staphylococcus); A. BRODMEYER, Zentr. Bakt., I, *18*, 380 (1895). HOROWITZ, Ann. Inst. Pasteur, *30*, 307 (1916) für Proteus vulgaris. — 9) BEIJERINCK, Zentr. Bakt., II, *7*, 33 (1901); DÜGGELI, Naturw. Woch.schr., *14*, 305 (1915).

das Wachstum von neuem anregen. Unter den Harnstoffbacterien sind sowohl anaerobe als aerobe Formen bekannt (**1**).

Nach den Untersuchungen von VIEHOEVER ist Bac. probatus mixotroph und vermag zur Not sich seinen Kohlenstoff aus dem Ammoniumcarbonat zu beschaffen. Doch ist die Darreichung von Aminosäuren oder Pepton, wie schon MIQUEL fand, außerordentlich fördernd. Dabei genügt nach SÖHNGEN (**2**) die Hinzufügung von Kohlenhydrat oder organischsaurem Salz zum Harnstoff; Eiweißstickstoff ist nicht nötig. Nach AUBEL und COLIN (**3**) hat Zuckergegenwart bei den eigentlichen Harnstoffbacterien auf die Harnstoffspaltung keinen wesentlichen Einfluß. Für bestimmte Harnstoffbacterien beobachtete E. KOHN in meinem Laboratorium eine Wachstumshemmung, sobald der Glucosegehalt der Lösung 2% überstieg. In dieser Hinsicht ist es von großem Interesse, daß VIEHOEVER bei Harnstoffbacterien die Fähigkeit feststellen konnte, Ammoniak zu Nitrit zu oxydieren, denn auch Reinkulturen von Nitrosobacterien werden durch Zucker leicht gehemmt. Die nitrifizierenden und harnstoffvergärenden Bacterien teilen endlich nach CHRISTENSEN (**4**) noch die Eigentümlichkeit, daß sie durch Humusstoffe in ihrer Gärungstätigkeit stark angeregt werden.

Die Spaltung des Harnstoffes unter Wasseraufnahme in Kohlensäure und Ammoniak nach der Gleichung $NH_2 \cdot CO \cdot NH_2 + H_2O = CO_2 + 2\,NH_3 +$ Energie liefert bedeutend weniger freie Energie mit 102 Calorien gegenüber der Alkoholgärung mit 429 Calorien. Gelöster Harnstoff leistet bei seiner Umwandlung in gelöstes Ammoniumcarbonat nach BERTHELOT und PETIT (**5**) eine Wärmeentwicklung von 60—80 Calorien, je nach der Konzentration. Der relativ sehr bedeutende Umsatz von Harnstoff, von dem nur der allergeringste Teil zum Aufbau von Bacterienleibessubstanz verwendet wird, spricht trotz der geringfügigen Wärmetönung des Prozesses dafür, daß die Bacterien die frei werdende Energie ausnutzen. Daß die Bacterien auch ohne Harnstoff in Ammoniumcarbonat gut wachsen, kann nicht als Gegengrund gegen diese Ansicht verwendet werden. Inwieweit die von VIEHOEVER aufgefundene Oxydation des Ammoniak zu Nitrit als Energiegewinn eine Bedeutung hat, muß erst durch weitere Untersuchung gezeigt werden.

Die Harnstoffspaltung wird von den Bacterien mit Hilfe eines Enzyms vollzogen, der Urease, welche nach BEIJERINCKS Feststellungen den Endoenzymen zuzurechnen ist. Auf die Existenz eines Enzyms, welches Harnstoff hydrolysiert und welches von den Harnstoffgärung erregenden Bacterien produziert wird, deuteten schon Versuche von MUSCULUS hin. Später versuchten SHERIDAN LEA (**6**) sowie LEUBE die Isolierung des fraglichen Enzyms, ohne es von den Bacterien abtrennen zu können. MIQUEL legte sodann in einer längeren Untersuchungsreihe dar, daß es ihm gelungen sei, die Urease durch Filtration durch CHAMBERLAND-Kerzen von den Bacterien zu trennen. Diese Enzymlösung ist nach MIQUEL gegen höhere Temperaturen sowie gegen Alkoholfällung, sogar gegen Zutritt des Luftsauerstoffes sehr empfindlich. BEIJERINCK konnte aber die Resultate von MIQUEL nicht bestätigen, und er meint, MIQUEL sei durch schadhafte Filterkerzen, welche

---

1) K. SIMONSON, Diss. Zürich (1911); R. BURRI, Chem.-Ztg., *36*, 841 (1912). Vgl. auch GEILINGER, Zentr. Bakt., II, *47*, 245 (1917). — **2**) N. L. SÖHNGEN, Zentr. Bakt., II, *23*, 91 (1909); Verslag kgl. Akad. Amsterdam, 31. Okt. 1908. — **3**) AUBEL u. COLIN, Compt. rend. Soc. biol., *78*, 174 (1915). — **4**) H. R. CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., II, *24*, 130 (1909); *27*, 336 (1910). — **5**) BERTHELOT u. PETIT, Ann. Chim. et Phys. (6), *20*, 13 (1890). — **6**) A. SHERIDAN LEA, Journ. of Physiol. (6), *10*, 136 (1886).

allmählich die Bacterien selbst bei der Filtration hindurchtreten ließen, getäuscht worden. Das Enzym sei vielmehr auf diesem Wege von den Bacterien nicht abtrennbar. Damit stimmen auch die Angaben von MOLL. Die Existenz der Urease ist aber auch nach BEIJERINCK erwiesen, da Chloroformdampf die Bacterien bald tötet, ohne die harnstoffspaltende Wirkung des Präparates zu schädigen, und sich durch Alkoholfällung jahrelang wirksam bleibende Trockenpräparate frei von lebenden Bacterien erhalten lassen. JACOBY (**1**) gewann sehr einfach und sicher Ureasepräparate durch schnelles Trocknen abgetöteter Bacterienkulturen. Nach den Untersuchungen von ARMSTRONG (**2**) ist die Ureasewirkung streng auf Harnstoff eingeschränkt; Methylharnstoff und andere Harnstoffderivate werden nicht angegriffen. In diesen Arbeiten sind auch Angaben über Kinetik der Reaktion, accelerierende und hemmende Einflüsse einzusehen. Aldehyde hemmen die Urease ausgesprochen.

Die Herkunft der von SALKOWSKI (**3**) bei der ammoniakalischen Harngärung konstatierten Essigsäure, Butter- und Propionsäure ist noch unbestimmt. Der chemisch wichtige Übergang von Ammoniumcyanat in Harnstoff (**4**), der reversibel ist, hat bisher noch keine biochemische Bedeutung erlangt. Auf die Bestimmung des Harnstoffes, die in allen Handbüchern ausführlich behandelt wird, kann hier nicht eingegangen werden (**5**). Unter den neueren Methoden ist die Harnstoffbestimmung mittels Soja-Urease hervorzuheben (**6**).

Anhang:

Spaltung von Harnsäure und Hippursäure durch Bacterien.

Die in tierischen Exkreten neben Harnstoff reichlich abgeschiedene Harnsäure wird von Mikroben im natürlichen Kreislaufe der Stoffe ebenfalls rasch zersetzt. L. und F. SESTINI (**7**), welche sich zuerst bacteriologisch mit diesen Vorgängen befaßten, beschrieben „Bacter. ureae" und Bac. fluorescens als an diesen Prozessen beteiligt. ULPIANI und CINGOLANI (**8**) haben den spezifischen Erreger der Harnsäuregärung als Bact. acidi urici beschrieben. Der in der letzten Arbeit über Harnsäuregärung von LIEBERT (**9**)

---

1) M. JACOBY, Biochem. Ztsch., *84*, 354 (1917); *85*, 358 (1918). — **2**) H. E. ARMSTRONG u. E. HORTON, Proceed. Roy. Soc. B, *85*, 109 (1912); *86*, 328 (1913). Über Urease vgl. auch VAN SLYKE, Proc. Roy. Soc. Exp. Biol., *11*, 155 (1914). Journ. Biol. Chem., *28*, 391 (1916). FALK, Ebenda, *28*, 389 (1917). EULER, Biochem. Ztsch., *97*, 113 (1919). — **3**) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *13*, 264. — **4**) Hierzu: R. ESCALES, Chem.-Ztg., *35*, 595 (1911). D. F. CHATTAWAY, Journ. Chem. Soc., *101*, 170 (1912). E. WALKER, Proceed. Roy. Soc., A, *87*, 539 (1912). G. N. LEWIS u. BURROWS, Journ. Am. Chem. Soc., *34*, 1515 (1912). A. S. WHEELER, Ebenda, p. 1269. — **5**) Vgl. E. SALKOWSKI. Arbeit. pathol. Inst. Berlin 1906. K. SPIRO, Hofmeist. Beitr., *9*, 481 (1907). B. GLASSMANN, Ber. chem. Ges., *39*, 705 (1906). M. KROGH, Ztsch. physiol. Chem., *84*, 379 (1913). J. A. MILROY, Biochem. Journ., *7*, 399 (1913). H. T. RASMUSSEN, Skand. Arch. Physiol., *30*, 191 (1913). V. v. CORDIER, Monatsh. Chem., *33*, 759 (1912). Harnstoffchemie: P. RONA, Biochem. Handlex. von ABDERHALDEN, *4*, 765 (1911). ZEMPLEN, Ebenda, *9*, 167 (1915); GORTNER, Biochem. Bull., *3*, 468 (1914). — **6**) PLIMMER, Biochem. Journ., *8*, 70 (1914). ROSE u. COLEMAN, Biochem. Bull., *3*, 411 (1914). VAN SLYKE u. CULLEN, Journ. Biol. Chem., *24*, 117 (1916). FISKE, Ebenda, *23*, 455 (1915); HORVATH u. KADLETZ, Deutsche med. Woch.schr., *42*, 414 (1916); BOORSMA, Tijdskr. Genesk. Ned. Ind., *56*, 351. FOSSE, Compt. rend., *157*, 948 (1913); *158*, 1076, 1432, 1588 (1914); *159*, 253 (1914); Ann. Inst. Pasteur, *30*, 225 (1916) fällt den Harnstoff als unlösl. Dixanthylverbindung. — **7**) L. u. F. SESTINI, Landw. Vers.stat., *38*, 157 (1890). BURRI, HERFELDT u. STUTZER, Journ. f. Landw. (1894), p. 329. — **8**) C. ULPIANI, Gazz. chim. ital., *33*, II, 93 (1903). M. CINGOLANI, Ebenda, p. 98. — **9**) F. LIEBERT, Akad. Amsterdam, 6. Mai 1909.

angegebene Bac. acidi urici ist anaerob, während nach diesem Autor die aerobe Harnsäuregärung durch Bac. fluorescens liquefaciens und non liquefaciens sowie Bact. calco-aceticum in neutralem bis schwach saurem Medium, durch Urobacterium Musculi und ein neues Bacterium in alkalischen Medien erzeugt wird. Jedenfalls können auch Erdbodenpilze an der Verarbeitung der Harnsäure in der Natur teilnehmen.

Durch die genannten Arbeiten sowie durch GÉRARD (1) ist gezeigt worden, daß der Abbau der Harnsäure über die Bildung von Harnstoff führt. Da nun im tierischen Stoffwechsel durch die Untersuchungen von WIECHOWSKI (2) die Überführung der Harnsäure in Allantoin nachgewiesen ist, so war zu erwarten, daß auch der bacterielle Harnsäureabbau intermediär Allantoin liefert. LIEBERT konnte dies in der Tat nachweisen. Entsprechend seiner Konstitution als Diureid der Glyoxylsäure geht das Allantoin beim weiteren Abbau über in Glyoxylsäure und Harnstoff, wovon die erstere rasch Oxalsäure ergibt:

$$\underset{\text{Harnsäure}}{\begin{array}{ll} NH\cdot CO & \\ CO & C\cdot NH \\ NH\cdot & C\cdot NH \end{array}\!\!>\!CO} \xrightarrow{+H_2O+O} \underset{\text{Allantoin } (+CO_2)}{\begin{array}{lcl} NH_2 & COH\cdot & NH \\ CO & \| & CO \\ NH\cdot & C\cdot & NH \end{array}} \xrightarrow{+2H_2O}$$

$$\underset{\text{Glyoxylsäure}}{\begin{array}{l} COH \\ | \\ COOH \end{array}} + 2\underset{\text{Harnstoff}}{\left[\begin{array}{l} NH_2 \\ CO \\ NH_2 \end{array}\right]} \xrightarrow{+O} \underset{\text{Oxalsäure}}{\begin{array}{l} COOH \\ COOH \end{array}} + 2\underset{\text{Harnstoff}}{\left[\begin{array}{l} NH_2 \\ CO \\ NH_2 \end{array}\right]}$$

Nachdem es für den tierischen Stoffwechsel erwiesen ist, daß sowohl Bildung als Abbau der Harnsäure sich durch Vermittlung oxydierender Fermente vollzieht (3), so darf ein uricolytisches Enzym auch für den mikrobischen Harnsäureabbau vermutet werden. In der Tat wird von KOSSOWICZ (4) mitgeteilt, daß die Kulturflüssigkeit und der Pilzbrei von verschiedenen Schimmelpilzen, mit Toluol und Harnsäure stehen gelassen, Harnsäure spaltet. Das Enzym ließ sich durch Alkohol fällen. ULPIANI und CINGOLANI (5) isolierten ein Bacterium aus Taubenkot, welches Harnsäure nicht angreift, wohl aber Guanin in Guanidin, Harnstoff und CO_2 zerlegt. Man darf wohl an ein Enzym denken, welches der Guanase aus Hefe analog wirkt (6). Eine Xanthinoxydase oder Adenase findet sich in der Hefe nicht. Zweifellos werden die von Pyrimidin und Purin abzuleitenden Nucleinbasen: Thymin, Cytosin, Guanin und Adenin, aber auch die desamidierten Oxydationsprodukte derselben: das Uracil, Xanthin und Hypoxanthin von Mikroben durch Enzyme: „Nucleooxydasen" weiter oxydativ gespalten unter Bildung von Harnstoff, doch ist über diese Vorgänge noch äußerst wenig bekannt. Man darf nur vermuten, daß die Verhältnisse

---

1) E. GÉRARD, Compt. rend., *122*, 1019; *123*, 185 (1896). — 2) W. WIECHOWSKI, Biochem. Ztsch., *25*, 431 (1910); Hofmeist. Beitr., *9*, 295 (1907); *11*, 109 (1907). K. ASCHER, Biochem. Ztsch. *26*, 370 (1910). — 3) Lit. G. GALEOTTI, Biochem. Ztsch., *30*, 376 (1911). F. BATTELLI u. STERN, Ebenda, *19*, 219 (1909); A. SCHITTENHELM, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 121 (1905); M. ALMAGIA, Hofmeist. Beitr., *7*, 459 (1906); W. WIECHOWSKI u. H. WIENER, Ebenda, *9*, 247 (1907). A. SCHULZ, Biochem. Ztsch., *48*, 86 (1912). A. E. AUSTIN, Journ. Med. Res., *15*, 309; *16*, 71 (1907). Zerstörung durch verschiedene Enzympräparate aus Pflanzen: G. BERTI, Biochem. e Terap. Sper., *2*, 266 (1911). — 4) A. KOSSOWICZ, Ztsch. Gär.physiol., *1*, 121 u. 317 (1912). — 5) C. ULPIANI u. M. CINGOLANI, Acc. Linc. Rom. (5), *14*, II, 596 (1906). — 6) Vgl. M. N. STRAUGHN u. W. JONES, Journ. biol. Chem., *6*, 245 (1909).

jenen ähnlich liegen, die man vom tierischen Organismus bereits kennen gelernt hat (1).

Wenigstens biologisch benachbart steht zu diesen Fragen die Verarbeitung der im Herbivorenharn massenhaft gelieferten Hippursäure oder Benzoylaminoessigsäure. Diese von VAN TIEGHEM bei harnstoffspaltenden Bacterien zuerst beobachtete Umsetzung hat HOPPE-SEYLER (2), sowie die Spaltung der Taurocholsäure in Cholsäure und Taurin auf enzymatische Prozesse zurückgeführt. Nach YOSHIMURA (3) erfolgt die Umwandlung der Hippursäure durch Mikroben an der Bodenoberfläche weit schneller als im Untergrund. Über das biologische Verhältnis dieser Harnbestandteile zu den Kulturgewächsen hat THOMSON (4) einige Mitteilungen gemacht.

§ 5.
Nitratreduktion und Nitratgärung durch Bacterien. Denitrifikation (5).

Während für viele Bacterien Nitrate durchaus ungenügende Nahrungsbestandteile darstellen, werden die salpetersauren Salze durch zahlreiche andere Bacterienformen nicht nur als Stickstoffquelle, sondern auch als Energiequelle ausgenutzt. Diese Bedeutung als Betriebsenergiequelle tritt in manchen Fällen so stark in den Vordergrund, daß außerordentlich große Mengen von Nitrat umgesetzt werden, und man wegen der unter starkem Schäumen der Nährlösung erfolgenden Stickstoffentwicklung geradezu von Nitratgärung zu sprechen pflegt. Für letztere unter totaler Abgabe des Nitratstickstoffes verlaufenden Prozesse ist die Benennung „Denitrifikation" üblich und man schränkt diese Bezeichnung auf jene bestimmte Art der Nitratzersetzung ein. Nitrate werden jedoch nicht bloß in dieser Art im Betriebsstoffwechsel von Bacterien umgesetzt, sondern erleiden noch andere Formen von Veränderungen: Reduktion zu Nitrit und Reduktion zu Ammoniak. Diese Vorgänge würden sich in gewisser Hinsicht der Besprechung der Sauerstoffgewinnung auf Kosten chemisch gebundenen Sauerstoffes anreihen lassen, doch steht die Funktion der Stickstoffbeschaffung zur Formierung der Bacterienleibessubstanzen so sehr im Vordergrunde (6), daß es gerechtfertigt ist, diese Reduktionsvorgänge im Rahmen der Stickstoffbeschaffung zu betrachten.

Reduktion von Nitraten zu Nitriten durch Bacterien beobachtete wahrscheinlich zuerst 1868 SCHOENBEIN (7), und später wurde durch MEUSEL, SPRINGER, FRANKLAND, und besonders GAYON und DUPETIT die Aufmerksamkeit auf solche Reduktionsvorgänge gelenkt (8). Bei den auf keimenden Samen sich ansiedelnden Bacterien wurde die Nitratreduktion und Nitritbildung von JORISSEN und von LAURENT bemerkt (9).

---

1) Hierzu: A. SCHITTENHELM, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *3*, I, p. 420 (1910). — 2) HOPPE-SEYLER, Pflüg. Arch., *12*, 1. — 3) K. YOSHIMURA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *2*, 221 (1895). O. LOEW, Ebenda, p. 223. — 4) MAG. A. THOMSON, Chem. Zentr. (1901), II, 556. — 5) Lit. HJ. JENSEN, Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 182 (1904). BAHN, Jahresber. ang. Botan., *3*, 137 (1906). — 6) Vgl. M. KLAESER, Ber. botan. Ges., *32*, 58 (1914). — 7) SCHOENBEIN, Journ. prakt. Chem., *105*, (1868); GRIESSMAYER, Ber. chem. Ges., *9*, 835 (1876). — 8) E. MEUSEL, Ebenda, *8*, 1214 (1875); Compt. rend., *80*, 533 (1875). A. SPRINGER, Ber. chem. Ges., *16*, 1228 (1883). P. J. FRANKLAND, Chem. News, *57*, 89 (1888). GAYON u. DUPETIT, Compt. rend., *95*, 1365 (1882). — 9) A. JORISSEN, Ber. chem. Ges., *18*, Ref. p. 78 (1885). E. LAURENT, Bull. Ac. Roy. Belg., *10*, 38 (1886).

Bereits FRANKLAND machte einige spezielle Bacterienformen als starke Nitritbildner namhaft. PETRI (1) entdeckte die Nitritbildung bei dem Erreger der asiatischen Cholera. LAURENT (2) sah, wie stark Luftabschluß den Nitritbildungsprozeß fördern kann, und daß Nitritbildung bei manchen ausgesprochenen Aeroben wie subtilis oder mesentericus nicht nachzuweisen ist. Über die Verbreitung der Nitritbildung machte sodann DIEUDONNÉ (3) ausführlichere Angaben, ferner JENSEN (4) über Nitritbildung durch Bact. coli, typhi und Choleravibrio, sowie durch viele andere Erd- und Wasserbacterien. Weitere Fälle von Nitritbildung betreffen Bac. tartricus (5), Bacterien aus umgeschlagenem Wein (6), Essigbacterien (7), Bac. megatherium (8) u. a. Auch B. proteus ist ein Nitritbildner (9). Bac. morulans, eine pathogene Mikrobe der Zuckerrübe, reduziert ebenfalls nach BONCQUET (10) die in der Wurzel enthaltenen Nitrate. MAASSEN (11) dem wir die eingehendsten Untersuchungen über die Verbreitung der Bildung von Nitrit aus Nitrat verdanken, stellte bei 85 von 109 untersuchten Arten diese Fähigkeit fest; die Nitritbildung schien öfters von Kulturbedingungen abzuhängen. Sehr kräftige Nitritbildung zeigte Bac. pyocyaneus. Zusatz von mehrwertigen Alkoholen, Kohlenhydraten schien allgemein die Nitritbildung zu begünstigen. Die Nitratreduktion durch Meeresbacterien wurde durch GRAN und BAUR studiert (12).

Als Nitritreagentien wurden von LUNKEWICZ (13) und DIEUDONNÉ das von I. COSVAY modifizierte GRIESSsche Reagens angewendet: 0,1 α-Naphthylamin, 20 Wasser, 150 vd. Essigsäure; andererseits 0,5 Sulfanilsäure auf 150 vd. Essigsäure. Die Lösungen werden vor dem Gebrauche zu gleichen Teilen gemischt. Dieses Reagens gibt mit salpetriger Säure eine sehr empfindliche tiefrote Farbenreaktion. Statt des „roten GRIESSschen Reagens" läßt sich das „gelbe GRIESSsche Reagens", Metaphenylendiamin, anwenden (14) oder nach MELDOLA (15) p-Aminobenzol-azodimethylanilin, womit man eine blaue Farbenreaktion erhält. Auch die Gelbfärbung von Nitriten mit Ferrocyankalium-Essigsäure (SCHAEFFERsche Probe) (16) oder die Blaufärbung von Indigotin, welches vorher mit HCl und Natriumthiosulfat entfärbt worden ist, nach SCHOENBEIN, oder die bekannte Jodkaliumstärkereaktion in Gegenwart von Schwefelsäure sind verwendbar, vorausgesetzt, daß die Kulturflüssigkeit keine anderen leicht oxydierenden Stoffe, wie Ferrisalze usw.

---

1) R. J. PETRI, Zentr. Bakt., *5*, Nr. 17 (1889); Nr. 13, p. 457. MN. CHWILEWSKY, Arch. Hyg., *76*, 401 (1913); J. CHUKEVICH, Arch. Sci. Biol. Petersb., *13*, 76 (1910). — 2) LAURENT, Ann. Inst. Pasteur, *4*, 722 (1890). H. KÜHL, Zentr. Bakt., II, *20*, 258 (1908); P. MAZÉ, Ann. Pasteur, *25*, 289 (1911); H. v. CARON, Zentr. Bakt., *33*, 63 (1912). — 3) DIEUDONNÉ, Arb. Kais. Ges.amt, *11*, 508 (1895). KLAESER, Zentr. Bakt., II, *41*, 365 (1914). — 4) HJ. JENSEN, Zentr. Bakt., II, *4*, 401 (1898); für coli auch: F. DUCHAČECK, Biochem. Zentr., *4*, Nr. 1223. W. B. WHERRY, Bur. Gov. Lab. Public. (1906), Nr. 31, II, Manila. Verschiedene pathogene Darmbacterien: E. PELZ, Zentr. Bakt., I, *57*, 1 (1911). Dysenteriemikroben: W. T. LOGIE, Journ. of Pathol. and Bact., *14*, 146 (1909). — 5) L. GRIMBERT u. L. FICQUET, Journ. Pharm. et Chim. (6), *7*, Nr. 3 (1898). — 6) F. BORDAS, JOULIN u. DE RACZKOWSKI, Compt. rend., *126*, 1050, 1443 (1898). — 7) W. SEIFERT, Kochs Jahresber. (1898), p. 160. — 8) J. STOKLASA, Zentr. Bakt., II, *4*, 284 (1898). Streptothrix chromogenes: BEIJERINCK, Ebenda, *6*, 8 (1900); Darmbacterien: C. A. HERTER, Journ. Biol. Chem., *4*, 239 (1908). E. CRESPOLANI, Chem. Zentr. 1905, II, 1811. — 9) HOROWITZ, Ann. Inst. Pasteur, *30*, 307 (1916). — 10) BONQUET, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 2572 (1916). — 11) A. MAASSEN, Arb. Kais. Ges.amt., *18*, 21 (1901). — 12) H. GRAN, Bergens Museums Aarbog 1901; BAUR, Wiss. Meeresunters., *6*, Heft IX. Kiel 1902. — 13) LUNKEWICZ, Zentr. Bakt., *16*, 945 (1894). — 14) C. WURSTER, Ber. chem. Ges., *22*, 1909 (1889). — 15) R. MELDOLA, Ebenda, *16*, 256 (1884). — 16) DEVENTER, Ebenda, *26*, 589 (1893).

enthält. Die „Cholerarotreaktion" ist mit der Nitritprobe mit Indol-Salzsäure identisch und gelingt in vielen der obigen Fälle deshalb, weil Nitrit und Indol gleichzeitig in der Kulturflüssigkeit zugegen sind (1). GEELMUYDEN (2) hat auf die GRIESSsche Probe ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung kleiner Nitritmengen im Seewasser begründet.

Die Lehre von der Nitratreduktion unter Nitritbildung enthält noch manche unklare Punkte. Vor allem ist es nötig, kritischer als bisher sicherzustellen, daß alles vorgefundene Nitrit tatsächlich aus Nitrat stammt, und nicht, wie es teilweise der Fall zu sein scheint, durch Oxydation aus Ammoniak hervorgeht. So fand MAZZETTI (3) durch Choleravibrionen mehr Nitrit gebildet, als dem zugesetzten Nitrat entsprach. Das gleiche gilt übrigens auch von der Nitritbildung in Zellen höherer Pilze und Phanerogamen (4). Nach KLAESER (5) vertragen einzelne Bacterien bei Gegenwart von Pepton bis 4 % Nitrit (subtilis und tumescens). Dieser Autor, der Nitritbildung in 27 von 28 untersuchten Fällen nachweisen konnte, meint, daß Nitritbildung und Nitratreduktion zu Ammoniak hervorragend durch die Reaktion der Nährlösung beeinflußt werde, so daß bei alkalischer Reaktion vorzugsweise Nitrit entsteht, bei saurer Ammoniak. Die elektrolytische Reduktion von Nitrat zu Nitrit geschieht bei alkalischer Reaktion (6). LAURENT (7) hat die Nitratreduktion durch Lichtwirkung näher studiert.

Bemerkenswert ist es auch, daß Bac. Pneumoniae, wie LÖHNIS (8) fand, gleichzeitig Nitrat assimiliert und Nitrit bildet, wobei die gegenseitige Stellung beider Prozesse recht unbestimmt bleibt.

2. Die Reduktion der Nitrate unter Bildung von Ammoniak scheint unter diesen Verhältnissen gleichfalls erneuter Untersuchungen zu bedürfen. Nach BEIJERINCK und VAN DELDEN (9) kann man bei Azotobacter chroococcum Ammoniakbildung aus Nitrat nachweisen unter intermediärer Entstehung von Nitrit, ein recht selten bei Bacterien beobachteter Vorgang. MARCHAL (10) hatte für Bac. mycoides Bildung von Nitrit und Ammoniak aus Zucker-Nitratnährlösung angegeben, und schon früher hatte MUNTZ (11) die Existenz solcher Ammoniak bildender Mikroben im Ackerboden vermutet. Nach den Angaben von FICHTENHOLZ (12) soll Bac. subtilis imstande sein, bei Kultur auf Nitritlösung Ammoniak zu bilden. CRESPOLANI (13) nahm an, daß bei Fäulnis successive Reduktion von Nitrat zu Nitrit und Ammoniak stattfinde. Vielleicht gehören auch die von GERLACH und VOGEL (14) als „eiweiß-

---

1) Die Cholerarotreaktion, die für den Choleravibrio nicht charakteristisch ist, sondern auch bei anderen Bacterien auftritt, wurde durch POEHL entdeckt; vgl. SALKOWSKI, Virch. Arch., *100*, 366; BRIEGER, Deutsche med. Woch.schr. (1887), p. 303 u. 469, gelang es aus dem violetten Farbstoff durch Zinkstaubreduktion Indol zu gewinnen, und so die Parallele mit der bekannten Nitrosoindolprobe (NENCKI, Ber. chem. Ges., *8*, 727) herzustellen. Auch MAASSEN, l. c. — 2) GEELMUYDEN, Biochem. Zentr. (1903), Ref. 914. Standard-Methode zur Bestimmung der Nitratreduktion: BREED, Zentr. Bakt., II, *45*, 374 (1916). — 3) L. MAZZETTI, Zentr. Bakt., I, *68*, 129 (1913). MAZÉ, Compt. rend., *152*, 1624 (1911). O. BAUDISCH, Ber. chem. Ges., *49*, 1148 (1916). — 4) Vgl. MAZÉ, Compt. rend., *153*, 357 (1911); Ann. Pasteur, *25*, 289 (1911). — 5) M. KLAESER, Ber. botan. Ges., *32*, 58 (1914). — 6) E. MÜLLER u. F. SPITZER, Ztsch. f. Elektrochem., *11*, 509 (1905). — 7) E. LAURENT, Rec. Trav. Inst. Bot. Bruxelles, *2*, 27 u. 47 (1906). — 8) F. LÖHNIS, Zentr. Bakt., II, *14*, 582 (1905). — 9) BEIJERINCK u. VAN DELDEN, Ebenda, *9*, 41 (1902). — 10) E. MARCHAL, Ebenda, *1*, 758 (1895). — 11) A. MUNTZ, Compt. rend., *110*, 1206. — 12) A. FICHTENHOLZ, Compt. rend., *128*, 442 (1899). Für Proteus vgl. HOROWITZ, l. c. — 13) E. CRESPOLANI, Boll. Chim. Farm., *44*, 697 (1905). — 14) GERLACH u. VOGEL, Zentr. Bakt., *7*, 609 (1901).

bildende Bacterien" beschriebenen Formen hierher, welche den Gesamt-N aus Niitrat als Eiweiß-N festhalten, wobei intermediäre Reduktion zu NH_3-Stickstoff erfolgen muß. STOKLASA und VITEK (1) machten eine größere Anzahl von Bacterien, darunter Bac. subtilis, mesentericus, mycoides, Clostridium gelatinosum, als solche namhaft, die unter Darreichung von Kohlenhydraten und organischen Säuren als C-Quelle Nitrat in NH_3 überführen. Alle diese Fälle müssen hier unter Vorbehalt zusammengestellt werden, da man nicht weiß, inwiefern sie zusammengehören und inwieweit die Nitritbildung mit der Ammoniakbildung zusammenhängt. Daß der in der anaëroben Atmung gebildete Alkohol als Reduktionsmittel bei der Erzeugung von Ammoniak aus Nitrat in Betracht kommt, wie STOKLASA annahm, ist durch nichts bewiesen.

3. Reduktion von Nitraten unter Freiwerden von Stickstoff; Nitratgärung oder Denitrifikation. Daß bei der Zersetzung organischer Stoffe im Boden gasförmiger Stickstoff entwickelt werde, wurde schon von DAVY (2) berichtet und von anderen Forschern bald bestätigt. Die meisten älteren Autoren, wie DIETZELL (3), faßten diese Erscheinung als rein chemische Reaktion zwischen Nitrit und Aminosäuren im Boden auf. Manche Widersprüche entstanden durch unzureichende Scheidung dieser Zersetzungsprozesse von der Eiweißfäulnis, bei der genaue Untersuchungen kein Entstehen von freien N feststellen konnten. [KELLNER und YOSHII, TACKE (4)]. GAYON und DUPETIT (5) erkannten 1882 zuerst, daß Nitrate unter N-Entwicklung durch Bacterien zersetzt werden. DÉHÉRAIN und MAQUENNE (6) machten die wichtige Beobachtung, daß die Nitratzersetzung in der Ackererde nur in sauerstofffreier Atmosphäre erfolgt, und Reichtum des Bodens an organischen Substanzen eine Vorbedingung ist. Erhitzen der Erde oder Imprägnierung derselben mit Chloroform hemmt den Prozeß. Schließlich stellten die genauen Untersuchungen von EHRENBERG (7) außer Zweifel, daß eine bacterielle Nitratzersetzung unter reichlicher Entbindung von freiem Stickstoff existiert, konform den Ausführungen von TACKE, der solche Prozesse gleichfalls feststellte. Trotz dieser bindenden Hinweise auf mikrobische Nitratzerstörung im Boden sind die Stimmen zugunsten des Vorkommens rein chemischen Nitratabbaues, der auch im sterilen Boden unter Vermittlung der Bodenkolloide erfolgen solle, nicht verstummt (8). Man könnte, wie es manche Forscher vorschlugen (9), unter Zugrundelegung der Annahme, daß aus anderweitig gebildetem Ammoniak und Nitrit die bekannte Spaltungsreaktion unter Stickstoffentwicklung resultiert, eine indirekte Denitrifikation von der wahren mikrobischen Nitratgärung unterscheiden. Doch erscheinen mir alle angegebenen Fälle von nicht

---

1) J. STOKLASA u. E. VITEK, Zentr. Bakt., *7*, 102 (1901). — 2) H. DAVY. Element. d. Agrikult. Chem. (1814), p. 309. MULDER, Chem. d. Ackerkrume, II, 189. — 3) DIETZELL, BIEDERMANN, Zentr. Agrikult. Chem., *11*, 417 (1882). — 4) O. KELLNER u. YOSHII, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 95 (1886). C. OPPENHEIMER, Ebenda, *41*, 3 (1904). BR. TACKE, Landw. Jahrb., *16*, 917 (1888). Chem. Zentr. (1886), p. 939. Widerlegt ist die Angabe von GIBSON [Wollnys Forsch. Agrik. Phys. (1895), p. 106] über N-Entwicklung bei Fleischfäulnis. — 5) GAYON u. DUPETIT, Compt. rend., *95*, 644 (1882). — 6) P. DÉHÉRAIN u. MAQUENNE, Ann. Agronom. (1883), p. 5. — 7) A. EHRENBERG, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 145 u. 438 (1886). — 8) Vgl. J. VOGEL, Zentr. Bakt., II, *34*, 540 (1912); Landw. Vers.stat., *78*, 265 (1912); Die Naturwiss., *2*, 48 (1914). — 9) A. BOUTRON, Les Bactéries dénitrifiantes. Paris 1904. L. GRIMBERT u. BAGROS, Soc. Biol., *66*, 760 (1909). Journ. Pharm. et Chim. (6), *30*, 5 (1909).

mikrobischer Nitratzersetzung recht fraglich hinsichtlich ihrer Bedeutung für den Stoffwechsel des Ackerbodens.

1886 waren GAYON und DUPETIT (1) imstande, zwei anaerobe Bacterien, Bact. denitrificans *α* und *β*, aus Ackerboden zu isolieren, welche beide Nitrate unter N-Entwicklung zersetzen. EHRENBERG konnte bestätigen, daß reichlicher Sauerstoffzutritt die Denitrifikation sistiert. Daß jedoch entgegen der Meinung von DÉHÉRAIN zur Nitratgärung völliger Sauerstoffabschluß nicht nötig ist, ergaben die Erfahrungen von TACKE. Unter den folgenden bestätigenden Arbeiten von LEONE, BRÉAL, IMMENDORFF, GILTAY und ABERSON (2) war besonders die Untersuchung der letzterwähnten holländischen Forscher von großer Bedeutung. Sie kultivierten die beiden Mikroben von GAYON und DUPETIT in einer Nährlösung von 2 g KNO_3, 1 g Asparagin, 2 g $MgSO_4$, 5 g Citronensäure, 2 g KH_2PO, 0,2 g $CaCl_2$ und einigen Tropfen $FeCl_3$ auf 1 l Wasser. In dieser Lösung konnte unter Luftabschluß annähernd der gesamte Nitrat-N in Stickstoffgas übergeführt werden. Weiter zeigte sich, daß das bei Asparagindarreichung auftretende Ammoniak nicht gebildet wird, wenn man statt Asparagin Zucker darreicht. GILTAY und ABERSON führten weiter aus, daß man die Nitratgärung als physiologische Reduktion und als Energiequelle aufzufassen habe.

Aus den folgenden Arbeiten von WAGNER sowie BURRI und STUTZER (3) ist insbesondere der Nachweis hervorzuheben, daß bei der Nitratgärung namhafte Mengen von freiem Alkali entstehen, die schließlich etwa bei einer 1 % Soda entsprechenden Alkalescenz dem Prozesse ein Ende setzen. Gegen freie Säure sind alle Nitratgärer sehr empfindlich. STUTZER lenkte ferner die Aufmerksamkeit auf den Umstand, daß sich in der Gesellschaft der Salpetergärungsmikroben stets Nitritbildner aufhalten, denen er einen Anteil an dem Gesamtprozeß in der Weise zuschreibt, daß bestimmte Denitrifikationsmikroben sich nur in der Spaltung des Nitrits zu freiem N_2 betätigen, während die Nitratreduktion durch Bact. coli und andere Nitritbildner besorgt wird. Übrigens wird nicht in Abrede gestellt, daß es auch Nitratgärungsmikroben gibt, die bei Luftabschluß Nitrat bis zu Stickstoff selbständig verarbeiten.

Bei der Untersuchung zahlreicher Bacterien hinsichtlich der Fähigkeit der Salpetergärung fand MAASSEN unter 109 Arten nur 4, welche Nitrate immer unter N_2-Entwicklung zerlegten: Bac. fluorescens liquefaciens, B. fluorescens aus Blut, B. pyocyaneus und praepollens. Diese Formen waren unabhängig vom Nährmaterial wirksam; 31 andere zerlegten Nitrate, wenn ihnen gleichzeitig Kohlenhydrat dargereicht wurde. Daß Pyocyaneus und andere Formen der Fluorescensreihe sehr wirksam sind, hat sich auch in späteren Untersuchungen bestätigt (4). Verschiedene andere Formen

1) GAYON u. DUPETIT, Rech. sur la Réduct. Nitrat. Nancy 1886. — 2) J. LEONE, Gazz. chim. ital., *20*, 98 (1890); Ber. chem. Ges., *23*, 179 (Ref.) (1890). E. BRÉAL, Compt. rend., *114*, 681 (1892). H. IMMENDORFF, Landw. Jahrb., *21*, 281 (1892); Journ. f. Landw., *52*, 69 (1894). FRANKLAND, Journ. Chem. Soc. (1888), p. 373. R. WARINGTON, Ebenda, p. 727. E. GILTAY u. G. ABERSON, Arch. Néerland, *25*, 341 (1892). — 3) P. WAGNER, Deutsche landw. Presse (1895), p. 62. R. BURRI u. A. STUTZER, Zentr. Bakt., *15*, 814 (1894). Journ. Landw. (1894), p. 329. Deutsche landw. Presse (1895), p. 385. Zentr. Bakt., II, *1*, 257 (1895). STUTZER u. MAUL, Ebenda, *2*, 473 (1896). — 4) LEHMANN u. NEUMANN (1897). SEWERIN, Zentr. Bakt., II, *3*, 510 (1897); *22*, 348 (1909); *25*, 479 (1909). H. WEISENBERG, Arch. Hyg., *30*, 274 (1897). E. B. FRED, Zentr. Bakt., II, *32*, 421 (1911). O. KÜNNEMANN, Landw. Vers.stat., *50*, 65 (1898); H. R. CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., II, *11*, 190 (1904).

wurden aus Pferdemist (1), aus Rinderexkrementen, wie Bac. denitrificans agilis (2), erhalten, wozu noch einige aus Ackerboden isolierte Arten kommen (3). Salpetergärung in der Melasse verursacht nach HENNEBERG (4) Bac. megatherioides. Ein thermophiles Denitrifikationsbacterium hat AMBROŽ beschrieben (5). Auch auf die denitrifizierenden Schwefelbacterien LIESKES (6) sei hingewiesen. Aus dem Meerwasser der Ostsee sind von BAUR (7) zwei neue Nitratgärer angegeben worden, Bact. actinopelte, welches auf Nitrate und Nitrite wirkt, und B. lobatum, welches nur Nitrite zersetzt. Drei weitere Formen, welche in der Ostsee bis zu 140 m Tiefe herabgehen, finden sich bei PARLANDT (8) beschrieben.

Über die häufigsten Formen, über methodische Angaben betreffs Anhäufung und Isolierung, wäre die Arbeit von ITERSON (9) einzusehen. HUTCHINSON (10) hat auf die, offenbar infolge alkalischer Reaktion eintretende krystallinische Abscheidung von basischem Magnesiumphosphat in den Kulturen der Nitratgärungsmikroben hingewiesen. Hinsichtlich der quantitativ-chemischen Methoden zur Untersuchung der Nitratgärung wird man bei FRANZEN und LÖHMANN (11) Anhaltspunkte finden.

Der Einfluß des Luftzutrittes auf den Verlauf der Salpeterzersetzung ist Gegenstand vielfacher Untersuchungen gewesen. Die Autoren stimmen wohl fast sämtlich darin überein, daß der Vorgang durch reichlichen Luftzutritt verzögert zu werden pflegt, daß mäßiger Luftzutritt nicht hinderlich ist, sowie darin, daß die Denitrifikation auch bei völligem Luftabschluß vor sich gehen kann (12). Dabei ist nur von Reinkulturen die Rede, da in Mischvegetationen wie in der freien Natur aerobe nicht denitrifizierende Arten den Sauerstoffzutritt durch ihre Konkurrenz auch bei voller Lüftung unterbinden können. Infolge dieses Verhaltens hat besonders JENSEN seiner Meinung dahin prägnanten Ausdruck gegeben, daß die denitrifizierenden Bacterien ihren Sauerstoffbedarf allein durch Zersetzung von Nitraten decken können, und die Bacterien im Sinne der von GILTAY und ABERSON geäußerten Meinung den Salpeter als Energiequelle benützen. Daß nur die Reduktion des Salpeters zu Nitrit durch die Bacterien vermittelt wird und sekundär die Nitritzersetzung durch Reaktionen zwischen den Stoffwechselprodukten stattfinde (13), ist wenig wahrscheinlich. Die denitrifizierenden Bacterien kommen in großer Menge in den oberen Bodenschichten vor, steigen jedoch manchmal noch reichlich bis zu mehr als 100 cm Bodentiefe hinab (14). Mit der fakultativen Anaerobie der Mikroben hängt es auch

---

1) J. SCHIROKIKH, Zentr. Bakt., II, *2*, 204 (1896). — 2) G. AMPOLA u. E. GARINO, Ebenda, *3*, 309 (1897). — 3) HJ. JENSEN, Ebenda, *4*, 406 (1898); *3*, 622 (1897). M. CINGOLANI, Staz. Sper. Agr. ital., *41*, 530 (1908); Ann. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), *2*, 274 (1908). — 4) W. HENNEBERG, Landw. Jahrb., *38*, Erg.bd. V, p. 329 (1909). LEMOIGNE, Compt. rend., *152*, 1873 (1911). Die von STOKLASA, Zentr. Bakt., II, *5*, 351 (1899) für Bac. megatherium behauptete Nitratreduktion wurde anderweitig nicht bestätigt. — 5) A. AMBROŽ, Zentr. Bakt., *37*, 3 (1913). — 6) R. LIESKE, Ber. botan. Ges., *30*, p. (12), (1912); Sitz.ber. Heidelberg. Akad., B, 1912, Abh. 6. Hierzu: GEHRING, Zentr. Bakt., II, *42*, 402 (1914). — 7) E. BAUR, Zentr. Bakt., II, *8*, 537 (1902). K. BRANDT, Beiheft bot. Zentr., *16*, 383 (1904). D. WEGNER, Diss. Berlin 1910. — 8) D. PARLANDT, Bull. jard. bot. imp. St. Petersb. (1911), XI, 97. Bacterien aus Meereswattenschlamm: H. KÜHL, Zentr. Bakt., II, *20*, 258 (1908). — 9) G. VAN ITERSON jun., Ebenda, *9*, 772 (1902); *12*, 106 (1904). C. HÖFLICH, Ebenda, *8*, 245 (1902). — 10) H. B. HUTCHINSON, Ebenda, *16*, 326 (1906). — Nomenclatur der Nitratbacterien: J. G. LIPMAN, Bot. Gaz., *51*, 454 (1911). — 11) H. FRANZEN u. E. LÖHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 52 (1909). — 12) WEISSENBERG, l. c. u. Zentr. Bakt., II, *8*, 166 (1902). P. DÉHÉRAIN, Compt. rend., *124*, 269 (1897); HJ. JENSEN, l. c.; STUTZER u. MAUL, Zentr. Bakt., II, *2*, 473 (1896). — 13) K. WOLF, Hyg. Rdsch., *9*, 538, 1169 (1899). — 14) ST. v. BAZAREWSKI, Neu. Jahrb. Mineralog. (1908), II, 186.

zusammen, daß relativ sehr feuchter Boden nur begünstigend auf die Nitratzersetzung wirkt (**1**), und auf Reisfeldern (**2**) sowie in Moorböden (**3**) sich allenthalben reichlich Denitrifikationsbacterien nachweisen lassen. Nach H. Fischer (**4**) ist auch in Teichen die Denitrifikation ein wichtiger Faktor, und es ließ sich als wichtigste Mikrobe Bact. fluorescens liquefaciens nachweisen. Das Temperaturoptimum wird übereinstimmend mit 27—30° für die Denitrifikation angegeben. Dies hindert aber nach Barthel (**5**) nicht, daß im Erdboden auch während der kältesten Jahreszeit die Nitratzersetzung in großem Umfange fortdauert. Daß die Nitratgärungsmikroben zu ihrer Ernährung organischer Stoffe bedürfen, zeigten bereits die Versuche von Stutzer und Maul, und Déhérain fand starke Förderung des Denitrifikationsprozesses bei Gegenwart von 0,25% Stärke. Jensen konstatierte, daß die Nitratgärung in Bouillon mit 0,3% KNO_3 viel rascher erfolgt als in der Giltay-Abersonschen Lösung. Jensen sowie Salzmann (**6**) fanden, daß verschiedene ein- und zweibasische organische Säuren, Oxalsäure aber nicht, von den Nitratgärungsbacterien als Kohlenstoffnahrung ausgenutzt werden. Hinsichtlich der Eignung des Zuckers bestand lange Zeit hindurch Unklarheit, wohl infolge des Umstandes, daß man die Wichtigkeit der Darreichung einer organischen Stickstoffquelle nicht hinreichender Beachtung gewürdigt hatte. Jensen (**7**), mit dem auch Stutzer (**8**) wesentlich übereinstimmt, fand, daß in Glucoselösung nur dann Denitrifikation eintritt, wenn gleichzeitig organische Säure, Fleischextrakt, Pepton oder Bouillon dargereicht wird. Ähnlich geben Grimbert und Bagros (**9**) an, daß Kohlenhydrate die Denitrifikation hemmen, sobald man nicht für Aminostoffe vorsorgt. Auch Asparagin wirkt günstig (**10**). Unter solchen Verhältnissen kann man Zuckergegenwart nur als sehr förderlich für die Denitrifikation bezeichnen (**11**). Daß auch Cellulose als Kohlenstoffquelle für die Nitratgärer geeignet ist, geht aus den Erfahrungen von Pringsheim (**12**) hervor. Insofern kann Gegenwart von Stroh (**13**) oder die Gründüngung (**14**) einen Einfluß auf die Intensität der Nitratgärung entfalten.

Mancherseits hat man an einen schädlichen Einfluß der Denitrifikation im Ackerboden bei Darreichung von Salpeterdüngung gedacht (**15**). Doch

---

1) A. Koch u. H. Pettit, Zentr. Bakt., II, *26*, 335 (1910). E. Giustiniani, Biedermanns Zentr. Agr. Chem., *31*, 1 (1902). Lemmermann u. Wichers, Zentr. Bakt., *41*, 608 (1914). Oelsner, Ebenda, *48*, 210 (1918). — **2**) G. Daikuhara u. T. Imaseki, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 7 (1907). — **3**) Hierzu: G. A. Ritter, Zentr. Bakt., II, *34*, 577 (1912). — Allgemeines über Denitrifikation im Ackerboden: F. S. Marr, Mitteil. landw. Inst. Breslau, *5*, 639 (1910); L. Felsinger, Ztsch. landw. Vers.Wes., *14*, 1039 (1911). Th. Arnd, Landw. Jahrb. 1915, p. 371; Gully, Landw. Jahrb. Bayern, *6*, 1 (1916). — **4**) H. Fischer, Habil.-Schrift, München 1916. — **5**) Chr. Barthel, Zentr. Bakt., II, *25*, 108 (1909). — **6**) P. Salzmann, Ebenda, *8*, 348 (1902). — **7**) Hj. Jensen, Ebenda, *5*, 716 (1899); *7*, 637 (1901). — **8**) A. Stutzer, Mitteil. landw. Inst. Breslau, Heft I (1899). Zentr. Bakt., II, *7*, 81, 639 (1901). — **9**) L. Grimbert u. Bagros, Journ. Pharm. et Chim. (6), *30*, 5 (1909). — **10**) H. Fischer, Zentr. Bakt., II, *20*, 256 (1908). — **11**) H. v. Caron, Ebenda, *33*, 63 (1912); Chr. Barthel, Ztsch. Gär-physiol., *4*, 11 (1914); früher: W. Krüger u. W. Schneidewind, Landw. Jahrb., *28*, 217 (1899); *29*, Heft 4/5 (1900). G. Ampola u. Ulpiani, Gazz. chim. ital., *28*, I, 410. J. Stoklasa u. Vitek, l. c. p. 112. — **12**) H. Pringsheim, Mitteil. deutsch. landw. Ges., 1912. — **13**) Th. Tschirikow u. A. Schmuck, Ergebn. Veget. u. Labor. Versuche von Prianischnikow, Moskau 1913, p. 270. Wirkung von frischem und verrottetem Dünger: M. Ferguson u. E. B. Fred, Va. Agr. Ex. Sta. Rep. (1908), p. 134. Wright, Zentr. Bakt., II, *46*, 74 (1916). Chinarindenabfälle: Nolte, Ebenda, *49*. 182 (1919). — **14**) A. Bartels, Journ. f. Landw., *58*, 143 (1910). — **15**) J. Stoklasa, Zentr. Bakt., II, *17*, 27 (1906). Th. Pfeiffer, L. Frank, Friedländer u. Ehrenberg, Mitteil. landw. Inst. Breslau, *4*, 715 (1909).

scheint es als ob solche unerwünschte Verluste an Salpeter-N nur bei abundanter organischer Düngung zu befürchten wären (1). Überdies wird Natronsalpeter weniger gut in der Nitratgärung zersetzt als Calciumnitrat (2).

Für die praktische Landwirtschaft sind selbstredend bedeutende N-Verluste durch Salpetergärung nicht gleichgültig. So hat LUMIA (3) die Frühdürre auf N-Mangel bei vorzeitiger Denitrifizierung zurückgeführt. Der Einfluß der Kalkdüngung (4), die hemmende Wirkung von Kalkstickstoff (5) haben einschlägiges Interesse.

Die Frage, welche Nitroverbindungen überhaupt von den Denitrifikationsmikroben angegriffen werden, haben AMPOLA und ULPIANI (6) zu bearbeiten begonnen. Denitrifikation erfolgte bei Darreichung aller Alkali- und Erdalkalinitrate, zweifelhaft war der Erfolg bei Aluminiumnitrat, negativ bei den Nitraten von Eisen, Mangan, Thorium, Yttrium und Silber, offenbar infolge der giftigen Eigenschaften der Kationen. Es wurde ferner Salpetersäure-Äthylester denitrifiziert, Nitromethan jedoch nicht angegriffen. Noch näher zu prüfen wäre die Bedeutung der Ionisierung und der Gegenwart von NO_3-Ionen. Die genannten Autoren fanden ferner, daß die Nitratgärungsbacterien imstande waren, Kaliumchlorat, Arsenat, Ferricyankalium zu reduzieren. SALZMANN machte bezüglich des Bact. Hartlebii dieselben Erfahrungen.

Der chemische Mechanismus der Nitratgärung ist ein höchst interessantes Problem. Dem oben mitgeteilten ist zu entnehmen, daß der Prozeß wahrscheinlich über die intermediäre Bildung von Nitrit geht. Schon ältere Angaben von WOLLNY und von TACKE (7) haben Stickoxydul als Produkt der Nitratgärung angegeben. Neuere Untersuchungen von BEIJERINCK und MINCKMAN (8), sowie von SUZUKI (9), haben bestätigt, daß besonders bei höheren Nitratkonzentrationen und höherer Temperatur stets die Bildung von N_2O zu beobachten ist. Sehr wirksam ist in dieser Hinsicht der von BEIJERINCK studierte Bac. nitrosus und Bac. pyocyaneus. Daß ferner unter den Umsatzprodukten Stickoxyd, NO, nicht fehlt, hat schon TACKE behauptet, und LEBEDEFF (10) konnte nachweisen, daß Bac. Hartlebii reichlich NO aus Nitrat bildet. Die Bildung dieser beiden Gase zeigt uns allerdings, daß die Reduktion der Nitrate über Nitrit hinausgeht, bis zum Anhydrid der untersalpetrigen Säure. Wie aber weiter der Stickstoff entsteht, ist in keiner Weise geklärt. Insbesondere wäre es wichtig zu wissen, ob Hydroxylamin und Ammoniak intermediär entstehen. Da man elektrolytische Reduktion der Salpetersäure in schwefelsaurer Lösung zu Ammoniak kennt (11), und O. LOEW (12) berichtet, daß Platinmohr in zuckerhaltiger Nitratlösung neben Oxydation des Zuckers die Reduktion des Salpeters zu Ammoniak vermittle, so ist es leicht möglich, daß die Denitrifikationsmikroben gleichfalls ein katalytisches Agens, ein Enzym erzeugen, das solche Reduktionen

---

1) H. FISCHER, Landw. Jahrb., *41*, 755 (1911). — 2) G. AMPOLA u. S. DE GRAZIA, Staz. Sper. Agrar. Ital., *39*, 593 (1906). Landwirtsch. Lit.: TH. PFEIFFER u. O. LEMMERMANN, Landw. Vers.stat., *50*, 115 (1898); *54*, 386 (1900). LEMMERMANN, Krit. Stud. üb. Denitrifikation. Jena 1900. Gegenseitiges Verhältnis von Denitrifikation u. Nitrifikation im Ackerboden: F. LÖHNIS, Zentr. Bakt., II, *13*, 706 (1904). — 3) C. LUMIA, Ann. Chim. appl., *1*, 1 (1915). — 4) MILLER, Ztsch. Gär.-phys., *4*, 194 (1914). — 5) LUMIA, Atti Accad. Lincei (5), *23*, II, 659 (1915). — 6) AMPOLA u. ULPIANI, Gazz. chim. ital., *29*, I, 49 (1899); *34*, II, 301 (1904). — 7) WOLLNY, Journ. f. Landw., *34*, 213. TACKE, Landw. Jahrb., *16*, 917 (1888); Zentr. Bakt., II, *26*, 236 (1910). — 8) M. W. BEIJERINCK u. MINKMAN, Ebenda, *25*, 30 (1909). — 9) SH. SUZUKI, Ebenda, *31*, 27 (1911). — 10) A. J. LEBEDEFF, Ber. botan. Ges., *29*, 327 (1911). — 11) J. TAFEL, Ztsch. anorgan. Chem., *31*, 289 (1902). — 12) O. LOEW, Ber. chem. Ges., *23*, 675 (1890).

ausführt (**1**). Übrigens muß ja allgemein bei der Bildung von Eiweiß-N aus zugeführtem Nitrat-N ein analoger Vorgang in lebenden Zellen stattfinden, worauf wir noch weiter unten zurückzukommen haben werden. Daß die Nitratreduktion durch Einwirkung von Formaldehyd über Formamid stattfinden muß (**2**), ist keine notwendige Voraussetzung.

Wären wirklich Nitrat, Nitrit und Ammoniak gleichzeitig zugegen, so wäre es leicht möglich, die Entstehung von freiem Stickstoff und von Stickoxydul im Denitrifikationsprozeß mit der bekannten Umsetzung von Ammoniumnitrit in Stickstoff und Wasser und der entsprechenden Reaktion (**3**) von Ammoniumnitrat unter Bildung von Stickoxydul

$$NH_4 \cdot NO_2 = N_2 + 2\,H_2O \qquad NH_4 \cdot NO_3 = N_2O + 2\,H_2O$$

zu vergleichen, um so eher, als diese Reaktionen durch Platin katalysiert werden, und man an die Wirksamkeit von Enzymen denken könnte. Stickstoff wird ferner bei Zusammentreffen von Aminosäuren und Nitrit frei. WROBLEWSKI sowie BUCHNER und RAPP (**4**) beobachteten auch beim Versetzen von frischem Hefepreßsaft mit Kaliumnitrit lebhafte N_2-Entwicklung.

Daß die Nitritbildung aus Nitrat ein Enzymprozeß ist, wird durch mancherlei tierphysiologische Erfahrungen nahegelegt (**5**). Da man auch bei höheren Pflanzen unter sicherem Ausschlusse von Bacterien, wie zuerst LAURENT (**6**) zeigte, Nitritbildung aus Nitraten findet, so dürften derartige Vorgänge bei Tieren und Pflanzen verbreitet vorkommen. Für die Wärmetönung der besprochenen Reaktionen hat man folgende Werte gefunden (**7**):

$$HNO_2Aq + O = HNO_3Aq + 184 \text{ Cal.}$$
$$NH_4 \cdot NO_2 \cdot Aq + 602 \text{ Cal.} = 2\,N + 4\,H + O_2 + Aq, \text{ bzw.}$$
$$HNO_2 \cdot Aq + 308 \text{ Cal.} = H + N + O_2 + Aq.$$

§ 6.

Nitratbildung aus Nitrit und Ammoniak: Nitrifikation durch Bacterien.

Die oft massenhafte Entstehung von Salpeter in der Natur an Orten, woselbst organische Stoffe in größerer Menge der Zersetzung anheimfallen, wurde bereits von GLAUBER in Zusammenhang mit Zersetzungen von Tier- und Pflanzenstoffen gebracht. Als sich die Chemie im 19. Jahrhundert mit der Salpeterbildung zu beschäftigen begann, und man das Auftreten und die Bildung des Salpeters im Ackerboden, dessen Abhängigkeit von klimatischen Einflüssen, die Entstehung großer Ablagerungen von Natronsalpeter, wie jene der Wüste Tarapaca in Peru (**8**), in den Bereich der Untersuchungen zog, waren die Ansichten geteilt, wie die älteren Arbeiten von LONGCHAMPS, GAY LUSSAC zeigen (**9**).

---

1) Hierzu: W. HULME, Journ. Chem. Soc., *105*, 623 (1914). — **2**) A. BACH, Compt. rend., *122*, 1499 (1896). — **3**) Über diese Reakt. vgl. R. WEGSCHEIDER, Ztsch. physikal. Chem., *36*, 543 (1901). V. H. VELEY, Proc. Chem. Soc., *19*, 142 (1903). W. BILTZ u. W. GAHL, Ztsch. Elektr.chem., *11*, 409 (1905). H. FRANZEN u. E. LÖHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 52 (1909). — **4**) WROBLEWSKI, Zentr. Physiol., *13*, 284 (1898). E. BUCHNER u. RAPP, Ber. chem. Ges., *34*, 1526 (1901). — **5**) A. STEPANOW, Arch. exp. Pathol., *47*, 411 (1902). J. ABELOUS u. E. GÉRARD, Compt. rend., *129*, 1023 (1899). — **6**) LAURENT, Ann. Inst. Pasteur, *4*, (1890). NABOKICH, Beiheft. botan. Zentr., *13*, 323 (1903). — **7**) WI. OSTWALD, Lehrb d. allg. Chem., Bd. 2, I. Teil, p. 145 (2. Aufl.). — **8**) BOUSSINGAULT, Die Landwirtschaft, 2. Aufl., *2*, 16 (1851). A. MUNTZ u. V. MARCANO, Boussingaults Agronomie, *8*, 144, 3. Aufl. (1891). — **9**) LONGCHAMP, Ann. Chim. et Phys. (2), *33*, 1 (1826). GAY LUSSAC, Ebenda, *34*, 86 (1827); Berzelius' Jahresber., *5*, 96 (1826).

Zumal als SCHOENBEIN (1) Salpetersäurebildung durch die Einwirkung von Ozon auf Stickstoffgas kennen lehrte, und man so dazu kam, an eine Salpetersäureanreicherung des Bodens aus der Atmosphäre zu denken (MULDER) (2). Später befaßte sich BOUSSINGAULT (3), welcher zuerst die hervorragende Eignung des Salpeterstickstoffes für manche höhere Pflanzen kennen gelernt hatte, sehr ausführlich mit dem Vorgange der Nitrifikation in der Ackererde. Daß der Salpeter auf Kosten des NH_3-Stickstoffes im Boden und des Luftsauerstoffes entsteht, hatte bereits DAVY (4) ausgesprochen, und LIEBIG (5) hatte die Oxydation des NH_3 zu HNO_3 ausführlich begründet. BOUSSINGAULT (6) zeigte außerdem, daß der N_2 der Atmosphäre selbst bei lebhaftester Nitrifikation absolut unbeteiligt bleibt. Daß übrigens der in höheren Pflanzen oft reichlich auftretende Kalisalpeter als solcher aus dem Boden von außen aufgenommen wird, und nicht in der Pflanze selbst erzeugt wird, findet sich bereits von MULDER apodiktisch ausgesprochen (7).

Die Oxydation von Ammoniak zu Salpetersäure ist nun in der Tat durch zahlreiche Prozesse der Sauerstoffübertragung, besonders bei höherer Temperatur, möglich (8), und es ist bemerkenswert, daß nach O. LOEW (9) Platinmohr diese Reaktion katalytisch beschleunigen kann. Alle diese Fälle haben aber für die natürliche Salpeterbildung keine entscheidende Bedeutung.

Daß die Nitrifikation im natürlichen Boden biologischer Natur ist und mit der Lebenstätigkeit von Mikroben direkt zusammenhängt, wurde 1877 durch A. MÜLLER, SCHLOESING und MUNTZ, WARINGTON, SOYKA wahrscheinlich gemacht (10). SCHLOESING und MUNTZ stellten die Hemmung dieses Vorganges durch Chloroform fest und zeigten, daß Nitrifikation durch Schimmel- und Sproßpilze nicht hervorgerufen werden kann. Sie erkannten auch den fördernden Einfluß höherer Temperatur und die Unentbehrlichkeit des Luftzutrittes. Organische Substanzen sollten die Kohlenstoffnahrung dieser Mikroben liefern. WARINGTON (11) sowie BERTHELOT (12) suchten die Bedingungen der natürlichen Nitrifikation näher zu präzisieren. MUNTZ und MARCANO (13) untersuchten die Beteiligung von Mikroben bei der Entstehung der südamerikanischen Salpeterlager, und MUNTZ (14) führte das Vorkommen von jodsaurem Salz in den letzteren auf mikrobische Oxydation aus Jodkali zurück.

---

1) SCHOENBEIN, Pogg. Ann., *67*, 211 (1846). — 2) MULDER, Chemie d. Ackerkrume, I, 247 (1861); II, 193. — 3) BOUSSINGAULT, Compt. rend. (1857), (1859); Agronomie, II, 1 u. 40; V, 311; VI, 191; MULDER, l. c. II, 197. — 4) H. DAVY, Elem. d. Agrik.chem. (1814), p. 408. — 5) J. LIEBIG, Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikult., 7. Aufl., I, 314. — 6) BOUSSINGAULT, ref. Ber. chem. Ges., *6*, 36 (1873). — 7) MULDER, l. c. III, 124. — 8) Zusammenstellung bei H. PLATH, Landw. Jahrb., *16*, 891 (1887); W. TRAUBE u. A. BILTZ, Ber. chem. Ges., *37*, 3130 (1904); elektr. Oxydation von NH_3: E. MÜLLER u. F. SPITZER, Ebenda, *38*, 778, 1188, 1190 (1905); W. TRAUBE, Ebenda, 828. Neuerdings haben wieder SESTINI, Landw. Vers.-stat., *60*, 103 (1904) und W. MOOSER, Ebenda, *75*, 53 (1911) die natürliche Nitratbildung teilweise auf inorganische Katalysen zurückgeführt. — 9) O. LOEW, Ber. chem. Ges., *23*, 1443 (1890). TRILLAT, Compt. rend. (1903), p. 53. — 10) A. MÜLLER, Landw. Vers.stat., *16*, 263; TH. SCHLOESING u. A. MUNTZ, Compt. rend., *84*, 301; *85*, 1018 (1877); *86*, 892 (1878); *89*, 891 u. 1074 (1879). R. WARINGTON, Ber. chem. Ges., *10*, 2241 (1877); *12*, 1213 (1879). Ann. Chim. et Phys., *14*, 562 (1878). SOYKA, ref. Ber. chem. Ges., *10*, 2235 (1877). STORER, Justs Jahresber. (1878), I, 499. — 11) WARINGTON, Journ. Chem. Soc. (1884), 637; (1885), 758; (1886), 228. — 12) BERTHELOT, Compt. rend., *101*, 775 (1885); DÉHÉRAIN, Annal. Agron., *13*, 241 (1887). — 13) MUNTZ u. MARCANO, Compt. rend., *101*, 65 (1885). A. PLAGEMANN, Kochs Jahresber. (1896), p. 2. — 14) MUNTZ, Compt. rend., *100*, 1136 (1885).

Nach den spezifischen Erregern der Nitrifikation wurde aber von Miles, Munro, Celli und Marino Zucco vergeblich gesucht (1); ja Frank (2) ging so weit, die mikrobische Natur der Nitrifikation im Boden wieder gänzlich in Abrede zu stellen. 1887 brachten Hueppe und Heraeus (3) die wichtige Erkenntnis, daß die Nitrifikationsmikroben ihre Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung aus kohlensaurem Ammoniak beschaffen können, so daß man Bacterien mit „anorganischer Kohlenstoffnahrung" in diesen Organismen vor sich hat. Die Reinkultur der wirksamen Mikroben gelang jedoch erst 1890 Winogradsky (4), nachdem dieser Forscher aufgefunden hatte, daß Gelatine oder ein anderer organischer Nährboden als Substrat für diese Bacterien ungeeignet ist, daß sie aber in Nährlösungen rein anorganischer Natur mit Ammoniumsalzzusatz, wie sie Winogradsky zuerst in filtriertem Züricher Seewasser unter Zusatz von Ammoniumsulfat, Dikaliumphosphat und basischem Magnesiumcarbonat anwendete, lebhafte Nitratbildung erzeugen. Winogradskys Arbeiten ergaben außer der Bestätigung der autotrophen Lebensweise der Nitrifikationsmikroben die vollkommen neue Tatsache, daß der Prozeß der Salpeterbildung aus Ammoniak kein einheitlicher ist, sondern durch ein Zusammenwirken von Mikroben bedingt wird. Die eine Bacteriengruppe, welche nach Winogradsky die Gattung Nitrosomonas mit den beiden Arten N. europaea und javanica, und die Gattung Nitrosococcus mit der Art N. brasiliensis umfaßt, oxydiert das Ammoniak zu Nitrit. Ganz andere Mikroben, die in die Gattung Nitrobacter verwiesen wurden, greifen Ammoniak nicht an, sondern beschränken sich auf die Oxydation der Nitrite zu Nitrat: Die schwierige Trennung der Nitrosobacterien und Nitrobacter gelang Winogradsky zuerst mit Hilfe der von Kühne eingeführten Kieselsäuregallertnährböden (5). Nitrobacter hingegen vermochte man sehr gut auf Nitritagar zu züchten. Später sind die Nitritbildner von Omellansky (6) erfolgreich auf Magnesia-Gipsplatten und auch auf Papierscheiben kultiviert worden, und Perotti (7) fand Blöcke aus Magnesiumcarbonat zu dem gleichen Zweck vorteilhaft. Nach Omeliansky (8) färben sich die Nitritbildner mit den gewöhnlichen Bacterienfärbungsmitteln, Nitrobacter aber fast gar nicht. Für den letzteren kann man die Sporenfärbung nach Thesing ohne Erhitzen verwenden: Fixierung mit 1 % Platinchlorid und Färbung mit kaltem Carbolfuchsin. In der Kultur ist nach Perotti (9) die Incubationszeit mit Nitrosomonas nur 25—26 Stunden, im Boden aber 20—25 Tage. Die Nitritbildung folgt ungefähr einer logarithmischen Kurve.

---

1) M. Miles, Chem. Zentr. (1887), p. 1317; Biedermanns Zentr. (1887), *8*, 514; Menozzi, Justs Jahresber. (1888), I, 234. E. A. Munro, Pharm. Journ. Trans. (1887), p. 578. A. Celli u. F. Marino Zucco, Chem. Zentr. (1887), 763; Ber. chem. Ges., *19*, Ref. p. 818 (1886). — 2) A. B. Frank, Ber. botan. Ges., *4*, 108 (1886). — 3) F. Hueppe, Tagebl. Nat.forsch. Vers. Wiesbaden (1887). W. Heraeus, Journ. f. Gasbeleucht. u. Wasserversorg. (1887), Nr. 11. Zentr. Bakt., *3*, Nr. 13 (1887). Chem. Zentr. (1888), I, 125. — 4) S. Winogradsky, Compt. rend., *110*, 1013 (1890); Annal. Inst. Pasteur, *4*, 213, 257, 760 (1890); *5*, 92, 577 (1891); Arch. Sci. Biol., I, 87 (1892). Zentr. Bakt., II, *2*, 415 (1896). Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 132 (1904). Über die begleitenden Bakterienformen: P. Bersteyn, Arb. bakt. Inst. Karlsruhe, *3*, Heft I (1904). — 5) W. Kühne, Ztsch. Biol., *27*, 172 (1891). Zentr. Bakt., *8*, 410. Stevens u. Temple, Ebenda, II, *21*, 84 (1908). — 6) W. Omeliansky, Ebenda, *5*, 537 (1899); *8*, 785 (1902). J. Makrinow, Ebenda, *24*, 415 (1909). — 7) R. Perotti, Rend. Acc. Linc. Roma (5), *14*, II, 228 (1905). Amali di Botan., *3*, 43 (1905). Zur Anhäufungskultur auch: Düggeli, Naturw. Woch.schr., *14*, 305 (1915). — 8) W. Omeliansky, Zentr. Bakt., II, *19*, 263 (1907). — 9) R. Perotti, Rend. Soc. Chim. Roma, *4*, 89 (1906).

Da WINOGRADSKY die erwähnten Nitrifikationsmikroben ubiquitär aus jedem Ackerboden und von pflanzenbewachsenen Territorien aller Klimaregionen der Erde isoliert hat, und seither mindestens keine ebenso allgemein konstatierbaren Nitratbildner gefunden worden sind, so scheint es in der Tat, als ob die WINOGRADSKYschen Mikroben die wichtigsten Erreger der Nitratbildung wären. Ob der von KASERER (1) angegebene Bac. nitrator, welcher aus Ammoniak direkt Nitrat bei Abwesenheit von organischer Substanz bildet, eine verbreitete und wichtige Mikrobe ist, müssen noch weitere Untersuchungen lehren. BEIJERINCK (2) unterschied zwei physiologische Spezies; Nitribacillus oligotrophus wird durch organische Stoffe gehemmt, N. polytrophus entsteht aus dieser Form unter Verlust der nitratbildenden Fähigkeit bei Gegenwart bestimmter organischer Stoffe. Die Rückverwandlung in oligotrophus gelang nicht. Manche im Laufe der Zeit geäußerten Ansichten über neu aufgefundene Nitratbildungsmikroben mußten wieder aufgegeben werden (3). Wie weit die Verbreitung der Nitrosobacterien reichen muß, läßt sich den Untersuchungen von MUNTZ (4) über deren Verbreitung und deren Anteil an der Humusbildung in der Felsenregion der Hochgebirge entnehmen. Entgegen früheren Ansichten ist die Nitratbildung überall in allen natürlichen Bodenarten verbreitet (5). Im Meerwasser scheinen Nitritbildner allenthalben vorzukommen (6), ebenso in süßen Gewässern, und selbst in Abwässern fehlen diese Organismen nicht (7). MÜNTZ und LAINÉ (8) konnten durch Berieselung von Tierkohle oder Torf mit sehr verdünnter Lösung von Ammoniumsulfat eine sehr ergiebige Salpeterbildung erzielen.

Wie ergiebig der natürliche Nitrifikationsprozeß sein kann, berechnet DÉHÉRAIN (9), und findet, daß die bacterielle Salpeterbildung in ungedüngter

---

1) KASERER, Ztsch. landw. Vers.wes. Österreichs (1907), p. 37. B. HEINZE, Landw. Mitteil. Prov. Sachsen (1910), p. 5. Zentr. Bakt., II, *26*, 683 gibt über solche Bacterien nur unbestimmte Andeutungen. — 2) BEIJERINCK, Akad. Amsterdam, *22*, 1163 (1914). Fol. Microbiol., *3* (1914). JOSHI, Mem. Dep. India Bact., Ser. *1*, 85 (1915) isolierte einen Actinomyces, den er für einen neuen Nitritbildner hält. — 3) So die Angaben von BURRI u. STUTZER, Zentr. Bakt., II, *1*, 722 (1895); *2*, 105 (1896), welche von den Verfassern selbst zurückgezogen wurden: ebenda, *7*, 168 (1901); STUTZER u. HARTLEB, Ebenda, *2*, 701 (1896); *3* (1897). RULLMANN, Ebenda, *3*, 228 (1897). Ebenso dubiös sind die Angaben von G. E. GAGE, Ebenda, *27*, 7 (1910) hinsichtlich Kulturen von Bac. radicicola. — 4) MUNTZ, Compt. rend., *111*, 1370 (1890). — 5) FR. WEIS, Zentr. Bakt., *28*, 434 (1910). Auch P. EHRENBERG, Mitteil. landw. Inst. kgl. Univ. Breslau, *4*, Heft I—II (1907). Die Meinung von EBERMAYER, Ber. botan. Ges., *6*, 217 (1888), daß die nitrifizierenden Bakterien im Waldboden fehlen, hat W. MIGULA, Zentr. Bakt., II, *6*, 365 (1900) widerlegt. Ferner über Verbreitung: A. BEDDIES, Chem.-Ztg. (1899), p. 645; (1901), p. 523. SCHULTZ-SCHULTZENSTEIN, Zentr. Bakt., II, *10*, 216. H. S. FREMLIN, Proc. Roy. Soc., *71*, Nr. 473 (1903); Chem. Zentr. (1903), I, 1153. Ferner: F. L. STEVENS u. W. A. WITHERS, Zentr. Bakt., *34*, 187 (1912); K. F. KELLERMAN u. T. R. ROBINSON, Science, *30*, 413 (1910). Drainwasseruntersuchungen: A. D. HALL, The Book of the Rothamsted Experiments, London 1905, p. 217. Waldboden: VOGEL v. FALCKENSTEIN, Journ. f. Landw., *62*, 173 (1914). Internat. Mitt. f. Bodenk., *3*, 494 (1913); HESSELMAN, Med. Stat. Skogsförs.. H. 13—14. Stockholm 1917. — 6) P. THOMESN, Ber. botan. Ges., *25*, 16 (1907). BAUR, Wissensch. Meeresuntersuch., Bd. VI, Heft 9. Kiel 1902. K. BRANDT, Nov. Act. Acad. Leop., *100*, Halle 1915. — 7) REID, Proc. Roy. Soc. London, B, *79*, p. 58 (1907). Über den sog. „aktivierten Schlamm" (durch längeres Einleiten von Luft zur lebhaften Nitrifikation gebrachte Abwässer) vgl. DIENERT, Compt. rend., *165*, 1116 (1917); NASHMITH u. MC KAY, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 339 (1918); RUDNICK, Ebenda, p. 400. — 8) A. MÜNTZ u. E. LAINÉ, Compt. rend., *141*, 861 (1905); *142*, 1239 (1906). Ann. Chim. et Phys. (8), *11*, 439 (1907); Mon. Sci. (4), *22*, I, 228 (1908). — 9) DÉHÉRAIN, Compt. rend., *125*, 209, 278 (1897); Ann. Agronom., *21*, 353 (1896); ferner G. ANDRÉ, Compt. rend., *136*, 820 (1903). LÖHNIS u. H. GREEN, Zentr. Bakt., *40*, 457 (1914).

Schwarzbrache in feuchten Jahren 200 kg Salpeter-N pro Hektar erzeugen kann, entsprechend einer Düngung mit 1250 kg Chilisalpeter; mehr, als die anspruchsvollste Feldfrucht verlangen kann. Wenn man auch aus verschiedenen Gründen die Nitrifikation im Boden und in der Lösung nicht unmittelbar vergleichen kann (1), so seien doch von den quantitativen Versuchen WINOGRADSKYS folgende Daten als Beispiele für die Intensität der Ammoniakoxydation angeführt.

						$\frac{N}{C}$
Kultur	Nr. 1	oxydierte	772,0 mg N;	assimilierte	19,7 mg C;	= 36,6
„	Nr. 2	„	506,1 mg N;	„	15,2 mg C;	= 33,3
„	Nr. 3	„	928,3 mg N;	„	26,4 mg C;	= 35,2
„	Nr. 4	„	815,4 mg N;	„	22,4 mg C;	= 36,4

Kultur Nr. 1 führte über: in frischer Nährlösung	N in HNO_2	N in HNO_3
am 11. März	81,3 mg	3,2 mg
„ 1. Mai	202,7 mg	3,1 mg
„ 13. Juni	151,1 mg	2,3 mg
„ 30. Juli	278,3 mg	

Die Doppelnatur des natürlichen Nitrifikationsprozesses wurde alsbald durch WARINGTON, MUNTZ, HALL und andere Forscher bestätigt (2).

Nach den vorhandenen Untersuchungen (3) hat die Temperatur auf den Fortgang der Nitrifikation großen Einfluß. Das Optimum wurde bei 25—27° C gefunden. Daß die Nitrifikation nur in den obersten Bodenschichten verläuft, ist mehrfach sichergestellt worden (4), und 90% des Gesamtprozesses vollzieht sich bis zu 40—50 cm Bodentiefe, am reichlichsten in den obersten 10 cm. Dies führt uns auf den großen Einfluß guter Lüftung des Bodens, welchen bereits DÉHÉRAIN und SCHLOESING (5) dargelegt haben. Es ist demnach begreiflich, daß sandiger Boden unter Umständen eine erheblich geförderte Nitrifikation zeigen kann (6). Doch greift da schon der Faktor des Wassergehaltes und der wasserhaltenden Kraft des Bodens stark ein. Nach TRAAEN (7) liegt das Optimum für die Nitrifikation bei einem Feuchtigkeitsgehalt der Erde von 17,5%, was etwa 2/3 der maximalen Wasserkapazität entspricht. Infolge des stark wechselnden Wassergehaltes ist die nitrifizierende Wirkung in Sandboden bedeutend geringer als in Lehmboden (8). Doch kann auch durch diese langsamere Nitrifikation

1) Vgl. STEVENS und WITHERS, Zentr. Bakt., II, *23*, 355 (1909). — 2) WARINGTON, Chem. News, *61* (1890); *63* (1891); *68*, 175 (1893). Journ. Chem. Soc., *49*, 484 (1891). A. MUNTZ, Compt. rend., *112*, 1142 (1891). LEONE, Gazz. chim. ital., *20*, 149 (1890). SCHLOESING Compt. rend., *110*, 429 (1890). BERTHELOT, Ebenda, 588. P. u. G. FRANKLAND, Proc. Roy. Soc., *47*, 296 (1890); Phil. Trans., *181*, 107 (1891); CHUARD, Compt. rend., *114*, 181. HELM, Kochs Jahresber. (1894), p. 265. WORTMANN, Landw. Jahrb., *20*, 175 (1891); DÉHÉRAIN, Compt. rend., *116*, 1091 (1893). OMELIANSKY, Zentr. Bakt., II, *5*, 473 (1900). HALL, The Book of the Rothamsted Exp. (1905), 217. — 3) Temperatur: R. ROCHE, Bull. Assoc. Chim. Sucre, *24*, 1699 (1907); ST. V. BAZAREWSKI, Neu. Jahrb. Mineralog. (1908), II, 186; auch G. A. WEBER, Diss. Jena 1912. — 4) BAZAREWSKI, l. c. A. KOCH, Journ. f. Landw., *59*, 293 (1911); J. G. MAC BETH u. N. R. SMITH, Zentr. Bakt., *40*, 24 (1914). — 5) P. DÉHÉRAIN, Compt. rend., *116*, 1041, 1091 (1893); *121*, 30 (1895); *125* 278 (1897). TH. SCHLOESING f., ebenda, *125*, 824 (1897). BUHLERT, Fühlings Landw. Ztg. (1904), Heft 1; auch MAZÉ, Compt. rend., *152*, 1625 (1911). Kompakte Bodenstruktur: LYON, BIZZELL u. CONN, Cornell Agr. Exp. Stat. Bull., 1913, p. 51. Tropische Böden: KELLEY, Hawaji Agr. Exp. Stat. Bull., *37* (1915). — 6) E. BR. FRED, Zentr. Bakt., *39*, 455 (1913). Va. Agr. Exp. Stat. Rep. 1911/12, p. 174. — 7) Wirkung der Feuchtigkeit: LIPMAN u. SHARP, Bot. Gaz., *59*, 402 (1915); LIPMAN u. BURGESS, Journ. Agr. Research, *7*, 47 (1916); TRAAEN, Zentr. Bakt., II, *45*, 119 (1916). — 8) O. LEMMERMANN, Landw. Jahrb., *38*, 319 (1909). Effekt von Irrigation: R. STEWART u. J. E. GREAVES, Zentr. Bakt., *34*, 115 (1912). Mc BETH u. SMITH,

im Laufe sehr langer Zeit in regenarmen Landstrichen, wie sie in den östlichen Vereinigten Staaten vorkommen, im trockenen Boden eine gewaltige Anhäufung von Nitrat zustandekommen (1), und offenbar sind Ursachen, wie man sie in Californien direkt studieren konnte, auch bei den peruanischen Salpeterlagern genetisch tätig gewesen. Daß beim Zurücktreten der Nitrifikation in Sumpf- und Moorboden und in sauren Gras- und Humusböden (2) die erschwerte Lüftung beteiligt ist, steht außer Frage. Doch kommt hier als weiterer Faktor die saure Beschaffenheit und die Kalkarmut solcher Böden in Betracht. Daß eine steigende Acidität des Bodens schädigt und Basicität vorteilhaft wirkt, ist in der Literatur mehrfach hervorgehoben (3). Daß man die Nitrifikation durch Zusatz von Calciumcarbonat unter Umständen außerordentlich ergiebiger machen kann, hat eine lange Reihe von Erfahrungen gelehrt (4). Weniger wirksam scheint Gips als Zutat zum Boden zu sein (5). Daß die Gegenwart reichlicherer Mengen verschiedener Alkalisalze für den Nitrifikationsprozeß nicht gleichgültig ist, weiß man schon lange (6). Lipman fand Natriumcarbonat am schädlichsten, weniger NaCl, am wenigsten schädlich Na_2SO_4. Selbstverständlich muß die Nitrifikation von dem Grade der vorausgegangenen Ammoniakbildung abhängen (7). Erwähnt mag noch sein, daß durch Arsenverbindungen eine Stimulation der Bodennitrifikation stattfinden soll (8). Montanari (9) sah aber von Arsen ebensowenig stimulierende Wirkungen auf Nitrifikation, wie von verschiedenen Schwermetallen. Vom Schwefelkohlenstoff wird angegeben,

---

l. c. R. Roche, l. c. Einfluß des Trocknens: Buddin, Journ. Agr. Sci., *6*, 452 (1914); Kelley, Journ. Agr. Research, *7*, 417 (1916).

1) Vgl. R. Stewart, Zentr. Bakt., *36*, 477 (1913); K. F. Kellerman, Ebenda, *27*, 234 (1910). Im Boden von Algier: Pouget u. Guiraud, Compt. rend., *148*, 725 (1909). Colorado-Böden: Sackett, Colo. Agr. Coll. Bull., 193, 1 (1914); Headden, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 586 (1914); Proc. Colorado Sci. Soc., *10*, 99 (1915); Sackett u. Isham, Science, *42*, 452 (1915). — 2) Lit. G. A. Ritter, Zentr. Bakt., II, *34*, 577 (1912). A. Petit, Ann. Sci. Agron., *30*, 397 (1913). J. C. Temple, Zentr. Bakt., *34*, 64 (1912); A. D. Hall, N. H. J. Miller u. Gimingham, Proc. Roy. Soc., B, *80*, 196 (1908). G. Daikuhara u. Imaseki, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, *7* (1907). Torf: Coquidé, Compt. rend., *160*, 253 (1915). Moorboden: Th. Arnd, Landw. Jahrb., *51*, 297 (1917); Zentr. Bakt., II, *45*, 554 (1916); *49*, 1 (1919); Mitt. Ver. Moorkult., *36*, 6 (1918). Gully, Landw. Jahrb. Bayern, *6*, 1 (1916). Saurer Boden: Temple, Georgia Exp. Sta. Bull. 1914, p. 103. Lipman, Proc. Acad. Sci. Wash., *1*, 477 (1915). — 3) Vgl. E. Ewell u. Wiley, Chem. Zentr. (1896), II, 251; P. L. Lyon u. J. A. Bizzell, Science, *30*, 773 (1910). — 4) E. Murmann, Österr. Chem.-Ztg. (2), *10*, 181 (1907); H. Fischer, Landw. Jahrb., *41*, 755 (1911); Machida, Bull. Imp. Centr. Ex. Sta., *1*, 1 (1905) sah manchmal Verzögerung durch Kalksalze, nicht aber durch Mg-Salze; P. E. Müller u. Fr. Weis, Det forstlige Forsögsvaesen, *3*, 235 (1906); J. Vogel, Zentr. Bakt., II, *32*, 169 (1911). Lemmermann u. Fresenius, Fühl. Landw. Ztg. (1912), Heft 7/8; Lemmermann, Fischer u. Husek, Landw. Vers.stat., *70*, 317 (1909). E. Br. Fred, Zentr. Bakt., *39*, 455 (1913). F. Polszeniusz, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *1*, 235 (1898). W. A. Withers u. G. S. Fraps, Journ. Am. Chem. Soc., *23*, 318 (1900); *24*, 528 (1901); *29*, 225 (1903). Fraps, Chem. Zentr. (1904), II, 1426. F. Miller, Ztsch. Gär-phys., *4*, 194 (1914). Th. Arnd, Landw. Jahrb., *49*, 191 (1916). — 5) S. Dezani, Staz. Sper. Agr. Ital., *44*, 119 (1911). J. W. Paterson, Journ. Agr. Victoria, *10*, 393 (1912). — 6) J. Crochetelle u. J. Dumont, Compt. rend., *117*, 670 (1893); *119*, 93 (1894); *118*, 604 (1894); *125*, 469 (1897). Ch. B. Lipman, Zentr. Bakt., *33*, 305 (1912). Ionenantagonismus: Lipman, Zentr. Bakt., *41*, 430 (1914).. The Plant World, *17*, 295 (1914). Kalkfaktor: Kelley, Zentr. Bakt., *42*, 577 (1914). — 7) Vgl. J. G. Lipman u. P. E. Brown, Ebenda, *26*, 590 (1910). Ammonverlust aus dem Boden: O. Lemmermann u. Fresenius, Landw. Jahrb., *45*, 127 (1913). — 8) J. E. Greaves, Zentr. Bakt., *39*, 542 (1913). Biochem. Bull., *3*, 2 (1913). — 9) C. Montanari, Staz. sper. agr. ital., *50*, 69 (1917). Mangan: Montanari, Ebenda, *47*, 441 (1914); Leoncini, Ebenda, p. 771.

daß er Hemmung bedingt, doch soll eine Erholung der salpeterbildenden Tätigkeit möglich sein (**1**).

Zum qualitativen Nachweise der aus Ammoniak in den Kulturen gebildeten salpetrigen Säure eignet sich vor allem die ungemein empfindliche GRIESSsche Reaktion: Sulfanilsäure und Naphthylamin in saurer Lösung, eventuell die von ERDMANN (**2**) angewendete Modifikation: Salzsaure Sulfanilsäurelösung mit Amidonaphtholdisulfosäure. Anwendbar ist auch die PLUGGEsche Reaktion: Phenol und Quecksilbersalz in saurer Lösung (**3**). Nitrite geben Grünfärbung mit essigsaurer Antipyrinlösung (**4**). Sodann ist die bekannte Indolreaktion zu erwähnen (**5**), schließlich kann man kleine Nitritmengen nachweisen durch Dimethylanilinchlorhydrat in saurer Lösung, wobei p-Nitrosodimethylanilin entsteht (**6**). Zur quantitativen Nitritbestimmung benutzt man colorimetrisch die GRIESSsche Reaktion, die jodometrische Methode oder die Oxydation der HNO_2 durch Chlorsäure zu Salpetersäure (**7**).

Die Nitrite lassen sich nach LACOMME und MOREL (**8**) durch Zerstörung derselben beim Erwärmen mit überschüssigem Salmiak von den Nitraten trennen, da letztere unverändert bleiben.

Zum Nachweise des Salpeters dienen die bekannten Reaktionen mit $FeSO_4$, Indigo, Brucin oder Diphenylamin, über deren Empfindlichkeitsgrenzen WAGNER (**9**) Angaben gemacht hat. Verfeinerungen und Modifikationen der Brucinmethode haben PÉCHARD, sowie CAZENEUVE und DÉFOURNEL angegeben (**10**). Die Diphenylaminprobe kann hier, weil andere störende Stoffe, wie Zucker, fehlen, mit Vorteil benutzt werden (**11**). Es empfiehlt sich, an Stelle der meist benutzten Schwefelsäure Salzsäure anzuwenden (**12**). Eine blaue Lösung von Di- (9, 10-Monoxyphenanthryl)-amin bei Abwesenheit von Wasser wird durch Nitrat rot gefärbt (**13**). Die quantitative Salpetersäurebestimmung wird vorgenommen nach der allgemein anwendbaren Methode von SCHLOESING (**14**), deren Details in den chemisch-

---

1) P. L. GAINEY, Zentr. Bakt., *39*, 584 (1914); CHAUDON DE BRIAILLES, Kochs Jahresber. (1895), p. 280. PAGNOUL, Compt. rend., *120*, 812 (1895). Ann. Agron. (1895), p. 497. Hemmung durch Naphthalin: CACCIARI, Staz. sper. agr. ital., *47*, 347 (1914). Durch Fichtenharz und Tannin im Boden keine Hemmung: KOCH u. OELSNER, Zentr. Bakt., II, *45*, 107 (1916). — **2**) H. ERDMANN, Ber. chem. Ges., *33*, 210 (1900). — **3**) PLUGGE, Chem. Zentr. (1896), I, 1283; DÉNIGÈS, Ebenda (1895), II, 946. — **4**) M. C. SCHUYTEN, Chem. Zentr. (1896), 722. Andere Reaktionen: BAUDET u. JANDRIER, Chem. Zentr. (1897), II, 65. E. RIEGLER, Ztsch. analyt. Chem., *36*, 306, 377 (1897). — **5**) Vgl. DANÉ, Bull. Soc. Chim. (4), *9*, 354 (1911). — **6**) E. H. MILLER, The Analyst, *37*, 345 (1912). — **7**) B. GRÜTZNER, Arch. Pharm., *235*, 241 (1897); J. TILLMANS u. W. SUTTHOFF, Ztsch. analyt. Chem., *50*, 473 (1911). G. BLANC, Journ. Pharm. et Chim. (7), *4*, 205 (1911). Vgl. ferner: FR. HAHN, Ber. chem. Ges., *50*, 705 (1917). DIENERT, Compt. rend., *167*, 366 (1918). — **8**) LACOMME u. A. MOREL, Biochem. Zentr. 1903, Ref. Nr. 1379. — **9**) A. WAGNER, Ztsch. analyt. Chem., *20*, 329 (1881). — **10**) P. PÉCHARD, Compt. rend., *121*, 758 (1896). CAZENEUVE u. DÉFOURNEL, Chem. Zentr. (1901), II, 231. — **11**) Vgl. SOLTSIEN, Ebenda (1887), p. 1572; H. KASERER, Ebenda (1903), I, 737. SOLTSIEN, Pharm. Ztg., *51*, 765 (1906); H. WIELAND, Ber. chem. Ges., *46*, 3296. 3304 (1913). — **12**) H. CARON, Annal. Chim. Appl., *16*, 211 (1911). W. A. WITHERS u. B. J. RAY, Journ. Am. Chem. Soc., *33*, 708 (1911). — **13**) J. SCHMIDT u. H. LUMPP, Ber. chem. Ges., *43*, 794 (1910). Reaktionen mit Arbutin und Berberin mit freier HNO_3. C. REICHARD, Chem.-Ztg., *30*, 790 (1906). Nachweis mit Nitrosalicylsäurebildung: TINGLE, Journ. Soc. Chem. Ind., *34*, 393 (1915); *35*, 77 (1916). — **14**) Die von PFEIFFER u. THURMANN, Landw. Vers.stat., *46*, 1 (1895) erhobenen Einwände haben sich in der Nachprüfung von P. LIECHTI u. RITTER, Ztsch. anal. Chem., *42*, 205 (1903) als nicht begründet erwiesen. N-Bestimmung in Nitraten: F. PILZ, Ztsch. landw. Vers.wes. Deutsch-Österr., *22*, 180 (1919).

analytischen Handbüchern zu ersehen sind. BOUSSINGAULT (1) verwendete die Indigotinreaktion zur quantitativen Salpetersäurebestimmung. Auch die Brucinreaktion läßt sich zur kolorimetrischen HNO_3-Bestimmung anwenden (2). Bezüglich der Nitratbestimmung in Ackerböden sei auf die Mitteilungen von KUNTZE, MONTANARI und HILL verwiesen (3).

Die Ammoniaknachweismethoden sind bereits bei früherer Gelegenheit berührt. Eine empfindliche Methode ist die Probe mit Manganosulfat und Wasserstoffperoxyd (4).

Obwohl durch die Arbeiten von WINOGRADSKY und OMELIANSKY eine Reihe wichtiger Fragen in der Ernährungsphysiologie der Nitrifikationsmikroben gelöst worden sind, so blieben doch über manche Punkte noch Zweifel übrig. So die Frage, inwiefern die freie CO_2 der Luft für die Kohlenstoffversorgung der Nitrosobacterien nötig ist, und ob irgendwelche Carbonate als C-Versorgung fungicren können. Die ersten Versuche WINOGRADSKYs zeigten, daß im Substrate keine andere C-Verbindung als ein Carbonat (es wurde basisches Magnesiumcarbonat dargereicht) vorhanden zu sein braucht, um die Mikroben zum Gedeihen zu bringen, und ließen im übrigen den Anteil der CO_2 in Luft und Wasser, sowie den etwaigen Anteil von Carbonaten der Nährlösung unbestimmt. GODLEWSKIs Versuche (5) haben später gezeigt, daß der Nitrifikationserfolg ausbleibt, wenn man nur basisches Magnesiumcarbonat als CO_2-Quelle darreicht, und die Luft-CO_2 ausschließt. Trotzdem ist nach WINOGRADSKY und OMELIANSKY (6) die Darreichung von neutralem Alkalicarbonat unentbehrlich neben freier CO_2, und das Natriumcarbonat kann nach diesen Forschern nicht durch Natriumbicarbonat ersetzt werden. Da ferner auch ein Wirkungsunterschied zwischen Magnesiumcarbonat und Calciumcarbonat besteht (7), so wäre wohl an Ionenwirkungen zu denken, die den Einfluß der CO_2-Versorgung kreuzen können. Hier und in anderen wichtigen Punkten haben MEYERHOFs neuere Untersuchungen erfolgreich eingegriffen. Die Notwendigkeit der freien CO_2 bestätigte auch dieser Autor. Daß außerdem noch Carbonat nötig ist, erklärt sich nach MEYERHOF (8) einfach daraus, daß der Nitratbildner ein sehr schmales Optimum der H -Ionenkonzentration zwischen 8,3 und 9,3 besitzt; dies wird eben durch die Darbietung von gelöstem Carbonat erreicht. Ferner ist der Sauerstoffgehalt der Luft von großem Einfluß. Flüchtige Substanzen aus der Luft kommen für die Ernährung des Nitratbildners sicher nicht in Betracht. Salpeterigsaure Ester werden ebenso glatt veratmet wie Nitrite. Der Stoffwechsel des Nitrobacter entspricht fast genau der Gleichung

1) BOUSSINGAULT, Agronomie, *2*, 217; TROTMAN u. PETERS, Chem. Zentr. (1902), II, 155. CAVAZZA, Chem. Zentr. (1912), II, 1061. — 2) H. NOLL, Ztsch. angew. Chem., *14*, 1317 (1901). — Sonstige Methoden: L. FARCY, Bull. Soc. Chim. (4), *5*, 775 (1909). E. M. CHAMOT u. D. S. PRATT, Journ. Am. Chem. Soc., *31*, 922 (1909). CLARENS, Journ. Pharm. et Chim. (7), *1*, 589 (1910). TILLMANS u. SUTTHOFF, Ztsch. anal. Chem., *50*, 473 (1911). LETTS u. REA, Journ. Chem. Soc., *105*, 1157 (1914). STRECKER, Ber. chem. Ges., *51*, 997 (1918). SCALES, Journ. Biol. Chem., *27*, 327 (1916). Im Wasser: LIEBERMANN u. ACÉL, Hyg. Rdsch., *25*, 805 (1915). — 3) L. KUNTZE, Chem. Zentr. (1896), II, 1133; C. MONTANARI, Ebenda (1901), II, 793. H. HILL, Va. Agr. Ex. Sta. Rep. 1911/12, p. 133. BUHLERT, Zentr. Bakt., *16*, 272; F. L. STEVENS u. WITHERS, Ebenda, *25*, 64 (1909). CHR. BARTHEL, Ebenda, *25*, 108 (1909). ALLEN, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 521 (1915). POTTER u. SNYDER, Ebenda, p. 863. Phenoldisulfosäure-Methode zur genauen Bestimmung von Bodennitrat: NOYES, Ebenda, *11*, 213 (1919). — 4) R. J. CARNEY, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 32 (1912). — 5) E. GODLEWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1892), p. 408; ebenda, Juni 1895; Zentr. Bakt., II, *2*, 458 (1896). Botan. Ztg. (1896), p. 177. — 6) WINOGRADSKY u. OMELIANSKY, Zentr. Bakt. (II), *5*, 334 (1899). — 7) S. MACHIDA, Bull. Imp. Centr. Ex. Sta., *1*, 1 (1905). — 8) O. MEYERHOF, Pflüg. Arch., *164*, 353 (1916); *166*, 240 (1917); *165*, 229 (1916).

$NaNO_2 + O = NaNO_3$. Erst auf 135 Teile oxydierten N kommt 1 Teil assimilierter Kohlenstoff. Die Energieausnutzung ist etwa 5%. Unter optimalen Bedingungen kann ein Umsatz von 4—5 g Nitrit auf 1 l in 24 Stunden erreicht werden. Die maximale Leistung des Nitritbildners betrug bei optimaler Durchlüftung 4 g Ammonsulfat pro Liter nitrifiziert in 24 Stunden. WINOGRADSKY fand Zusatz von Eisensalzen günstig für die Nitrifikation. Phosphorsäure ist wohl notwendig für die Nitratbildungsmikroben (1).

Die Frage, ob auch organische Amine usw von den Nitrifikationsmikroben oxydiert werden können, wurde bereits durch MUNRO und von DEMOUSSY zu beantworten gesucht (2); diese Forscher glaubten auch eine Nitrifikation organischer Stoffe annehmen zu dürfen. Eine Nachuntersuchung durch OMELIANSKY (3) konnte jedoch bezüglich der Verarbeitung von Harnstoff, Asparagin, Ovalbumin, Methylamin und Dimethylamin nur negative Resultate erzielen, so daß sich OMELIANSKY zum Schlusse genötigt sah, daß aus organischen Stickstoffverbindungen vorher der N in Form von NH_3 abgespalten werden müsse, ehe die Nitrosobacterien die Nitritbildung beginnen können. Da Kalkstickstoff langsamer nitrifiziert wird als Ammoniumsulfat (4), so geht wahrscheinlich auch hier eine Überführung in Ammoniak durch andere Mikroben voraus. OMELIANSKY (5) erzielte ferner keine positiven Resultate, als er prüfte, ob Nitrobacter imstande sei, schweflige oder phosphorige Säure zu oxydieren. Es scheint demnach, als ob Nitrobacter ebenso ausschließlich auf HNO_2 oxydierend wirkte, wie Nitrosomonas auf NH_3. Die Konzentration der dargereichten NH_3- bzw. HNO_2-Mengen darf gewisse Grenzen ohne Schädigung des Vorganges nicht überschreiten. Nach MEYERHOF liegt das Optimum der Nitritkonzentration bei 0,05%, ein schwaches Optimum noch bei 0,1%; über 0,3% erfolgt rasches Absinken, so daß bei 4% nur noch 26% der Optimalleistung erhalten sind. Für die Nitrosomonaden war das Optimum bei $^1/_{200}$ Mol. NH_4. Nach ROLANTS (6) wird freies Ammoniak bis zu einem Gehalte von 0,2 g pro Liter vollständig nitrifiziert, bei mehr als 0,5 g auf 1000 Wasser war die Nitrifikation völlig sistiert. Ammoniumcarbonat wird sehr gut verarbeitet, sogar bis zu 2 g pro Liter Nährlösung. Den Nitrobacterkulturen verabreichte WINOGRADSKY 1 g $NaNO_2$ auf 1 l Nährlösung. BOULLANGER und MASSOL (7) fanden Stillstand der Nitritbildung bei einer Konzentration von 30—50 g $(NH_4)_2SO_4$ im Liter dann erreicht, wenn die gebildete Magnesiumnitritmenge auf 13—15 g im Liter gestiegen war. Organische Ammoniumsalze wurden bis zu 6—10 g im Liter vertragen. Die Nitratbildung stockte, wenn die dargereichte Nitritmenge mehr als 20—25 g pro Liter betrug. Freies Ammoniak entfaltet, wie WARINGTON zuerst angegeben hat, und WINOGRADSKY und OMELIANSKY bestätigt haben, eine außerordentlich stark hemmende Wirkung auf Nitrobacter; schon 1 auf 1 Million NH_3-Zusatz zeigt einen deutlichen Einfluß. Es sind also die Nitritverarbeiter eng biologisch in ihrem Gedeihen mit der Funktion der Nitritbildner verknüpft. Alkalisalze hemmen den Nitritbildner nach MEYERHOF stärker als den Nitrobacter. Schwermetallsalze hemmen in ihren eiweißfällenden Konzentrationen,

---

1) G. WIMMER, Ztsch. Hyg., *48*, 135 (1904). — 2) MUNRO, Chem. Zentr. (1888), II, 1535; DEMOUSSY, Ann. Agronom., *25*, 232 (1899). — 3) OMELIANSKY, Zentr. Bakt., II, *5* 481 (1899); BEESLEY, Journ. Chem. Soc., *105*, 1014 (1914) hat indessen wieder positive Resultate erzielt. — 4) S. DE GRAZIA, Staz. Sper. Agr. ital., *41*, 241 (1908). — 5) OMELIANSKY, Zentr. Bakt., *9*, 63 (1902). — 6) E. ROLANTS, Rev. d'Hygiene, *25*, 521 (1903). — 7) E. BOULLANGER u. L. MASSOL, Ann. Inst. Pasteur, *17*, 492 (1903); *18*, 180 (1904). Zentr. Bakt., II, *14*, 739 (1905).

Hg- und Ag-Salze sehr stark. Bemerkenswert ist die enorme Hemmung durch Narkotica, auch durch gewisse aromatische Amine.

Eine hemmende Wirkung der Gegenwart organischer Verbindungen auf die Tätigkeit der Nitrifikationsmikroben war bereits von FRANKLAND, MUNRO und anderen Forschern beobachtet worden, wurde aber von anderer Seite wieder in Abrede gestellt (1). Eingehende Untersuchungen hierüber verdankt man besonders WINOGRADSKY und OMELIANSKY, welche die außerordentlich interessante Tatsache kennen lehrten, daß schon relativ kleine Mengen von Glucose, Pepton, Asparagin, Harnstoff ausreichend sind, um das Wachstum der Nitritmikroben und Nitratbildner in Reinkulturen zu hemmen, ja gänzlich zu unterdrücken. Die genannten Forscher geben folgende Daten an:

	Nitritmikroben		Nitratmikroben	
	hemmende Dosis in %	gänzl. hindernde Dosis in %	hemmende Dosis in %	gänzl. hindernde Dosis in %
Glucose.	0,025—0,05	0,2	0,05	0,2—0,3
Pepton	0,025	0,2	0,8	1,25
Asparagin . . .	0,05	0,3	0,05	0,5—1
Glycerin	mehr als 0,2	?	0,05	mehr als 1,
Harnstoff	mehr als 0,2	?	0,5	mehr als 1
Natriumacetat .	0,5	mehr als 1,5	1,5	3,0
Natriumbutyrat .	0,5	mehr als 1,5	0,5	1,0
Fleischbrühe . .	10,0	20—40	10,5	60,0
Ammoniak . . .	—	—	0,0005	0,015

MEYERHOF fand die hemmende Glucosekonzentration für den Nitritbildner bei 0,001 Mol., ziemlich übereinstimmend mit WINOGRADSKY.

Diese Beobachtungen bieten eine Fülle des wichtigsten und lehrreichsten biologischen Materiales und zeigen, wie wenig absolute Gültigkeit unseren landläufigen Vorstellungen über die physiologische Wirkung verschiedener Stoffe, Nährstoffe und Gifte, zukommt. Mit Recht sagt WINOGRADSKY: „Alle diese unerwarteten Tatsachen beweisen uns von neuem, wie tiefgehende Unterschiede der physiologischen Eigenschaften in der Mikrobienwelt vorhanden sind. Sie sind es bis zu dem Grade, daß die Nahrungsbedürfnisse, oder im allgemeinen die Lebensbedingungen, fast diametral entgegengesetzt sein können. Die für die eine Art besten Verhältnisse können für eine andere geradezu verderblich sein, und dieselbe Substanz kann bald das beste Nährmittel, bald ein gleichgültiger Stoff, bald endlich ein kräftiges Antiseptikum sein.“ Der Zucker, den wir so allgemein als hervorragenden Nährstoff kennen, übertrifft in seiner schädlichen Wirkung von 2 : 1000 auf die Nitrosomonaden die Wirkung der Phenole, und das Ammoniak bei weitem Sublimat und die stärksten Antiseptika. In bezug auf nährende und giftige Stoffe verhalten sich die verschiedenen Organismen ähnlich wie die aeroben und anaeroben Wesen hinsichtlich ihres Sauerstoffbedarfes, und WINOGRADSKY hat der Entdeckung des Lebens ohne Sauerstoff durch PASTEUR ein würdiges Seitenstück zugesellt: das „Leben ohne Zucker“.

In der Folge ist man allerdings auf die wichtige Tatsache mehr aufmerksam geworden, daß diese Hemmungen durch organische Stoffe in Reinkulturen viel mehr ausgesprochen sind, als im natürlichen Substrat. Im

1) z. B. J. LEONE u. O. MAGNANINI, Ber. chem. Ges., *24*, Ref. p. 674 (1891).

Boden wird der Prozeß auch durch große Düngermengen nicht gehindert (1). KARPINSKI und NIKLEWSKI (2) zeigten, daß in unreinen Kulturen der Mikroben sogar eine Förderung durch verschiedene organische Stoffe: Humat, Bodenauszug, Acetat, selbst Pepton und Zucker erfolgt. Mehrfach ist besonders über günstige Wirkungen von Humus auf die im natürlichen Boden verlaufende Nitrifikation berichtet worden (3). Allerdings müssen nach BARTHEL (4) leichtlösliche organische Stoffe auch im Boden erst mineralisiert werden, ehe Nitrifikation erfolgt, sonst tritt auch hier eine Hemmung der letzteren ein. Schwerlösliche organische Stoffe haben wenig Wirkung auf die Nitrifikation. Jedenfalls hängen alle diese Wirkungen mit dem Ineinandergreifen der verschiedenen Mikrobenprozesse zusammen, und von dem Verhältnisse der Ammonisation zur Nitrifikation wird es abhängen, inwieweit die letztere gefördert werden kann. Natürlich haben diese Dinge praktische Bedeutung im Hinblick auf den Einfluß von Düngung (5).

Mehrfach ist in neuerer Zeit ein gewisser Einfluß der Vorfrucht auf die nachfolgend stattfindende Nitrifikation im Ackerboden beobachtet worden. Mais sowie Luzerne soll namhafte Steigerung der Nitrifikation im nachfolgenden erzeugt haben (6).

Es liegt angesichts der weitverbreitet nachgewiesenen Beteiligung von Enzymen bei biologischen Oxydationsprozessen nahe, an die Produktion von spezifisch wirkenden Oxydasen: Ammoniakoxydase und Nitritoxydase, bei den Nitritbildnern und Nitratbildnern zu denken. Für die besonders energisch wirkenden Nitrosomonaden versuchte bereits OMELIANSKY (7) eine Oxydase nachzuweisen, jedoch ohne positiven Erfolg. Günstiger steht es mit der Annahme einer Nitritoxydase, da die Oxydation von Nitrit zu Nitrat für eine Reihe von Fällen in tierischen Organen (8), auf fermentativem Wege nachgewiesen ist, wenngleich ähnliche Beobachtungen auf pflanzenphysiologischem Gebiete noch fehlen. Was die Frage nach der fermentativen Oxydation von Ammoniak zu Nitrit anbelangt, so dürfte nach den Beobachtungen von MAZÉ und BACH über die Entstehung von Nitrit in Pflanzenextrakten (9) vielleicht eine derartige Oxydation noch verbreitet aufzufinden sein. Wahrscheinlich hat man manches für reduktive Nitritbildung aus Nitrat gehalten, was in den Bereich solcher oxydativer Nitritbildung gehört (10).

---

1) F. L. STEVENS u. W. A. WITHERS, Zentr. Bakt., *27*, 169 (1910). — 2) A. KARPINSKI u. BR. NIKLEWSKI, Anzeig. Akad. Krakau (1907), p. 596. Im Boden: L. C. COLEMAN, Zentr. Bakt., II, *20*, 401 (1908). MAZÉ, Compt. rend., *152*, 1625 (1911). FREMLIN, Journ. Hyg., *14*, 149 (1914). WRIGHT, Zentr. Bakt., II, *46*, 74 (1916). BARTHEL, Ebenda, *49*, 382 (1919); GREAVES u. CARTER, Journ. Agr. Res., *6*, 889 (1916). — 3) A. MÜNTZ u. E. LAINÉ, Compt. rend., *142*, 430 (1906); J. MAKRINOW, Zentr. Bakt., II, *24*, 415 (1909); F. LÖHNIS u. H. GREEN, Ebenda, *40*, 52 (1914). — 4) CHR. BARTHEL, Ztsch. Gär.physiol., *4*, 11 (1914). Über Verhinderung der Nitrifikation durch Kohlenstoffverbindungen bei Abwässern: H. W. CLARK u. GEO. O. ADAMS, Journ. Ind. Eng. Chem., *4*, 272 (1912). — 5) Nitrifikation im Stallmist: BR. NIKLEWSKI, Zentr. Bakt., II, *26*, 388 (1910). G. S. FRAPS, Journ. Am. Chem. Soc., *28*, 213 (1906). — 6) T. L. LYON u. J. A. BIZZELL, Zentr. Bakt., *37*, 161 (1913). Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 136 (1913); Cornell Univ. Agr. Ex. Sta. Ithaca 1913. Schädliche Einflüsse: E. GUTZEIT, Zentr. Bakt., *16*, II, 358 (1906). Allgemeines über die Bedeutung der Nitrifikation für Kulturpflanzen: Landw. Jahrb., *34*, 761 (1905). LYON u. BIZZELL, Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem., Nr. 1, 1913. — 7) W. OMELIANSKY, Zentr. Bakt., II, *9*, 113 (1903). — 8) ABELOUS u. GÉRARD, Compt. rend., *129*, 1023 (1899); J. H. KASTLE u. E. ELVOVE, Amer. Chem. Journ., *31*, 195 (1904). — 9) MAZÉ, Compt. rend., *153*, 357 (1911); Compt. rend. Soc. Biol., *78*, 98 (1915). A. BACH, Biochem. Ztsch., *52*, 418 (1913). — 10) Für Bacterien: L. MAZZETTI, Zentr. Bakt., I, *68*, 129 (1913).

Es sei hinzugefügt, daß man durch Oxydation von Ammoniak mit Alkalipersulfat in alkalischer Lösung reichlich Nitrat erhält (1), und daß Nitrit und Nitrat bei elektrolytischer Oxydation von Ammoniak in Gegenwart von Kupferoxydhydrat entsteht (2). Ultraviolette Bestrahlung oxydiert nach BERTHELOT und GAUDECHON (3) Ammoniak bis Nitrit, und führt Nitrat durch Reduktion in Nitrit über. Katalytische Oxydation von NH_3 mittels geröstetem Pyrit studierte MENEGHINI (4). Schließlich ist zur Frage katalytischer Einflüsse bei der biologischen Nitrifikation auch eine Studie von CHODAT (5) zu vergleichen.

Von Zwischenprodukten der Nitrifikation ist nicht viel bekannt. Stickstoff ist durch GODLEWSKI wie durch SCHLOESING (6) bei der Nitratbildung nachgewiesen; doch wurde dessen Bildung mit der gleichzeitigen Anwesenheit von Ammoniak und Nitrit erklärt. Das zu erwartende Stickoxydul wurde bisher noch nicht gefunden. Die sonst bezüglich der Entstehung organischer Körpersubstanz der Nitrosomonaden aus NH_3 und CO_2 aufgestellten Hypothesen sind ziemlich willkürlich und aller Beweise entbehrend. WINOGRADSKY meinte, daß aus dem Ammoniumcarbonat zunächst Harnstoff entstehe und dieser auf noch unbekannte Art Proteinsubstanzen liefere. O. LOEW (7) nahm wieder an, daß die Oxydation von Ammoniak teilweise unvollständig unter Bildung von Nitrit und H_2 verlaufe, und der entstandene Wasserstoff die CO_2 zu Formaldehyd reduziere, welches durch Polymerisation Zucker ergibt.

§ 7.

Die Assimilation von Stickstoffgas.

Die Assimilation von Stickstoffgas, und damit die Ausnutzung der ungeheuren Stickstoffmenge, welche die Erdatmosphäre enthält und welche in den terrestrischen Gewässern gelöst ist, wird vor allem durch gewisse Formenkreise von Bacterien vollzogen, von denen die eine Gruppe in Symbiose mit Blütenpflanzen lebt, und auch diesen den Genuß der ihnen selbst zu Gebote stehenden N-Quelle vermittelt; die anderen aber im Humusboden, sowie in den Meeren und süßen Gewässern freilebend den zur Verfügung stehenden freien Stickstoff assimilieren.

Die Frage, ob auch echte Pilze Luft-N binden, ist schon von BOUSSINGAULT (8) an Penicillium untersucht worden; das Ergebnis war ein negatives. Positive Resultate wollten später SESTINI und DEL TORRE, in neuerer Zeit PURIEWITSCH und SAIDA erzielt haben (9). Da es sich in diesen wie in späteren Arbeiten anderer Forscher oft um N-Differenzen von wenigen Milligramm, ja Bruchteilen von Milligrammen handelt, wo man mindestens zweifeln kann, ob diese Unterschiede nicht in die methodischen Fehlergrenzen fallen, ist große Zurückhaltung gegenüber solchen positiven Behauptungen am Platze. Überdies sind öfters die Untersuchungsmethoden nicht genau genug mitgeteilt. So darf es nicht Wunder nehmen, wenn manche Forscher im Laufe der Arbeit selbst ihre ursprüngliche Meinung zurückgenommen haben und die ganze

---

1) R. KEMPF, Ber. chem. Ges., *38*, 3972 (1905). — 2) W. TRAUBE u. A. BILTZ, Ebenda, *39*, 166 (1906). — 3) D. BERTHELOT u. H. GAUDECHON, Compt. rend., *152*, 522 (1911). — 4) D. MENEGHINI, Gazz. chim. ital., *43*, I, 81 (1913). — 5) R. CHODAT, Bull. Herb. Boissier (2), *6*, 512 (1906). — 6) TH. SCHLOESING, Compt. rend., *109*, 883 (1889). — 7) O. LOEW, Botan. Zentr., *46*, 223 (1891). Bakt. Zentr., *9*, 659 (1891). — 8) BOUSSINGAULT, Agronomie, *2*, 301. — 9) F. SESTINI u. J. DEL TORRE, Bull. Soc. Chim. (1875), p. 494. K. PURIEWITSCH, Ber. botan. Ges., *13*, 342 (1895). K. SAIDA, Ebenda, *19*, Gen.Vers.-Heft, p. 107 (1901).

Frage der N-Fixierung durch Pilze höchst problematischer Natur ist. Aspergillus und Penicillium sind mit wechselndem Erfolg untersucht worden; LIPMAN, LATHAM, CH. TERNETZ entschieden sich für die Annahme einer N-Fixierung (1), hingegen lehnte PENNINGTON (2) diese Ansicht für Penicillium, Aspergillus, Alternaria und zwei Fusarien ab. FROELICH (3) fand Alternaria tenuis, Macrosporium, Cladosporium und Hormodendron auf sehr N-armem Substrat gut wirksam. GODDARD (4) konnte wieder bei 14 untersuchten Pilzen aus Gartenerde keine N-Fixierung feststellen. Von 54 Hyphomycetenformen, die STAHEL (5) prüfte, wuchsen die meisten auf Agar ohne Zusatz von N-Verbindungen; nur bei 9 Arten ließ sich aus dem Gedeihen unter solchen Verhältnissen eine N-Fixierung „erschließen". Wenn man bedenkt, wie leicht minimale NH_3-Spuren aus der Luft, durch Verunreinigungen der Chemikalien bei der nötigen langen Versuchsdauer in die Kulturen gelangen, und wie anspruchslos hinsichtlich N viele Organismen sind, muß man wohl geneigt werden, erst bessere Methoden abzuwarten, ehe eine N-Fixierung angenommen werden kann. Phoma betae scheint besonders befähigt zu sein, mit Spuren von N-Verbindungen auszukommen. W. FISCHER (6) sah sie sogar am besten gedeihen auf Substraten ohne jeden N-Zusatz. Dasselbe war auch in Versuchen von TERNETZ (7) der Fall, die sich außer auf Phoma auch auf reinkultivierte Mycorrhizapilze von Ericaceenwurzeln erstreckten. Phoma ist nach dieser Forscherin wirksamer als Azotobacter und fixierte pro Gramm Zucker 18—22 mg N. Es wird in dieser Arbeit betont, daß man die Kulturflüssigkeit mit berücksichtigen müsse, um den vollen Ertrag der N-Fixierung zu finden, da dieselbe die Hauptmenge des assimilierten N enthält. Doch sind selbstverständlich damit die erwähnten Bedenken nicht beseitigt. Für Dematium pullulans hatte HEINZE (8) N-Fixierung angenommen.

Hinsichtlich der Sproßpilze darf die Angelegenheit der N-Fixierung eher als abgeschlossen gelten. Mit Ausnahme von LIPMAN, der selbst Saccharomyces cerevisiae als N-bindend ansah, ist die Frage für Hefen in negativem Sinne erledigt worden. KOSSOWICZ (9) hat seine frühere Ansicht von der N-Bindung durch Saccharomyceten, Willia, Monilia und Oidium lactis aufgeben müssen, und LINDNER und NEUMANN (10) konnten bei Saccharomyces farinosus, Blastoderma salmonicolor und Oidium lactis keine Resultate zugunsten einer N-Fixierung verzeichnen. Für Torula liegen allerdings aus früherer Zeit noch positive Angaben vor (11), die anscheinend nicht eingehende Nachuntersuchung erfahren haben.

BREFELD und FALCK (12) haben gefunden, daß die mit Brandpilzen infizierten Gräser keinen Stickstoff fixieren. Ebenso wird man den in den Früchten von Lolium temulentum und anderen Loliumarten in den meisten

---

1) LIPMAN, Journ. Biol. Chem., *10*, 169 (1911). LATHAM, Torrey Bot. Club, *36*, 235 (1909). CH. TERNETZ, Ber. botan. Ges., *22*, 267 (1904). Naturw. Rdsch., *22*, 497 (1907); Jahrb. wiss. Bot., *44*, 353 (1907). — 2) PENNINGTON, Torrey Bot. Club, *38*, 135 (1911). — 3) H. FROELICH, Jahrb. wiss. Bot., *45*, 256 (1907). — 4) GODDARD, Bot. Gaz., *56*, 249 (1913). Vgl. auch HEINZE, Annal. mycolog., *4*, 41 (1906). — 5) G. STAHEL, Jahrb. wiss. Bot., *45*, 579 (1911). — 6) W. FISCHER, Kaiser Wilhelms Inst. Landwirtsch. Bromberg, *5*, 85 (1912). R. SCHANDER u. FISCHER, Landw. Jahrb., *48*, 717 (1915). — 7) CH. TERNETZ, l. c. — 8) HEINZE, Landw. Jahrb., *39*, Erg.bd. 3 (1910). — 9) A. KOSSOWICZ, Ztsch. Gär.physiol., *1*, 253 (1912); Biochem. Ztsch., *64*, 82 (1914). Ztsch. Gär.phys., *5*, 26 (1914). — 10) P. LINDNER u. NAUMANN, Woch.schr. Brau., *30*, 589 (1913); Zentr. Bakt., *40*, 536 (1914). — 11) H. WILL, Zentr. Bakt., *34*, 1 (1912); SCHECKENBACH, Diss. Erlangen (1911); ZIKES, Sitz.ber. Wien. Ak., *108*, I, 1091 (1909). — 12) O. BREFELD u. R. FALCK, Untersuch. a. d. Ges.gebiet d. Mycol., *13* (1905), p. 70.

Gegenden regelmäßig anzutreffenden Pilz, den FUCHS (**1**) auf Grund seiner erfolgreichen Kulturversuche als ein Fusarium (metachroum) anspricht, trotz der Angabe von HANNIG (**2**), daß pilzhaltiges Lolium eine geringe N-Menge aus der Luft aufnehmen könne, kaum für etwas anderes als einen Parasiten erklären können. Die Giftigkeit der Loliumfrüchte dürfte auf der Verpilzung beruhen.

Wenig Sicheres und allgemein Gültiges läßt sich zur Zeit noch von der seit FRANK (**3**) so benannten Mycorrhiza, oder den mit Wurzeln höherer Pflanzen so häufig symbiontisch epi- oder endophytisch lebenden Fadenpilzen und Actinomyceten sagen. Es ist sogar zweifelhaft, ob alle diese Gebilde biologisch und physiologisch verwandte Erscheinungen darstellen. Die ersten Mitteilungen über Wurzelpilze gab KAMIENSKI (**4**) hinsichtlich der Monotropa hypopitys. FRANK erkannte die weite Verbreitung solcher Gebilde, welche später durch die Untersuchungen von SCHLICHT, SARAUW, GROOM, JANSE und STAHL näher aufgehellt wurden (**5**). Über die Zugehörigkeit der Mycorrhizapilze wurden die verschiedenartigsten Vermutungen geäußert. FRANK dachte an einen Zusammenhang mit Tuberaceen, und späterhin wurden die Mycorrhizafäden meist als Pilzhyphen aufgefaßt. Auch heute gehen in vielen Fällen die Meinungen bezüglich der Zugehörigkeit des Mycorrhizapilzes auseinander. So leitet MÖLLER (**6**) die epiphytische Mycorrhiza der Pinus silvestris von Mucorineen ab, während es FUCHS gelang, durch Infektion von Pinus Strobus in sterilem Humus mit Collybia macroura Mycorrhizen zu erzielen (**7**), PEKLO (**8**) aber für die Mycorrhiza der Fichte an Penicilliumarten dachte. Nach PENNINGTON (**9**) ist die Mycorrhiza von Quercus rubra in Nordamerika stets gebildet durch Russula emetica, Tricholoma transmutans und Boletus speciosus. MAC DOUGALL (**10**) rechnet den Wurzelpilz von Tilia americana zu Russula, den von Quercus alba zu Scleroderma; auf Betula sollen Boletus scaber und ein Cortinarius Mycorrhizen bilden. Für Carpinus Betulus nennt PEKLO (**11**) ein Penicillium aus der Verwandtschaft von P. geophilum als Mycorrhizapilz, außerdem Citromyces. Zur epiphytischen Mycorrhiza ist noch die Wurzelverpilzung von Monotropa (**12**) zu rechnen, wenn sich bei ihren Verwandten auch bereits

---

1) J. FUCHS, Hedwigia, *51*, 221 (1911). E. M. FREEMAN, Minnesota Bot. Stud. (3), *3*, 329 (1904). Phil. Trans., B, *196*, 1 (1903). — **2**) E. HANNIG, Ber. bot. Ges., *26*, 238 (1908). Botan. Ztg., *65*, I, 25 (1907); früher L. HILTNER, Zentr. Bakt., II, *5*, 831 (1899). ED. HACKEL, Mitt. naturwiss. Ver. Steiermark (1904), p. LII, Graz 1905. — Über die verpilzten Getreidefrüchte von J. PEKLO, Ber. bot. Ges., *31*, 370 (1913) sind noch weitere Untersuchungen abzuwarten. — **3**) A. B. FRANK, Tagebl. Nat.forsch.-Vers. Straßburg (1885), p. 101. Ber. bot. Ges., *3*, 128; Gen.Vers.-Heft, p. 27 (1885); ebenda, *5*, 395 (1887); *6*, 248 (1888); *9*, 244 (1891); *10*, 577 (1892). Forstwiss. Zentr. 1894. Vgl. L. HILTNER, Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 64 (1907). L. KNY u. W. MAGNUS, Botan. Wandtafeln, XIII. Abt., Erläut. Text. Berlin 1911. — **4**) FR. KAMIENSKI, Mém. Soc. Nat. Cherbourg, *24*, 5 (1882). Bot. Zentr., *30*, 2 (1887). WORONIN, Ber. bot. Ges., *3*, 205 (1885). M. REES, Botan. Ztg., *38* (1880). — **5**) A. SCHLICHT, Diss. Erlangen 1889. Ber. bot. Ges., *6*, 269 (1888). G. SARAUW, Beiheft. bot. Zentr., *6*, 24 (1896). Bot. Zentr., *53*, 343 (1893). Rev. mycol., *25*, 157 (1903). P. GROOM, Ann. of Bot., *9*, 327 (1895). J. M. JANSE, Ann. jard. bot. Buitenzorg, *14*, 53 (1896). E. STAHL, Jahrb. wiss. Bot., *34*, 539 (1900). F. W. NEGER, Naturw. Ztsch. Land- u. Forstw., *1*, 372 (1903). — **6**) A. MÖLLER, Botan. Zentr., *93*, 257 (1903). Ztsch Forst- u. Jagdwes., *35*, 257 (1903). — **7**) J. FUCHS. Bezieh. v. Agaricineen z. Mycorrhiza der Waldbäume. Biblioth. Botan., *76* (1911). Knöllchenartige Mycorrhiza b. Pin. Cembra: P. JACCARD, Act. Soc. Helv. Sc. Nat. Winterthur (1904), p. 52. — **8**) J. PEKLO, Ztsch. Gär.physiol., *2*, 246 (1913). Abietineen: W. NOELLE, Bot. Ztg., *68*, I, 169 (1910). — **9**) L. H. PENNINGTON, Rep. Michigan Acad. Sci., *10*, 47 (1908). — **10**) W. B. MAC DOUGALL, Amer. Journ. of Bot., *1*, 51 (1914). — **11**) J. PEKLO, Ber. bot. Ges., *27*, 239 (1909). — **12**) Über Monotropa auch C. QUEVA, Mém. Soc. Hist. Nat. d'Autun, *22* (1909).

eigentümliche Blasenhyphen in das Innere der Epidermiszellen hineinerstrecken und so ein Übergang zur endophytischen Mycorrhiza gebildet wird. Sonst wuchern Hyphenäste nur in die Mittellamellen zwischen die Zellen hinein (Austauschhyphen von KNY).

Das regelmäßige Vorkommen dieser epiphytischen Wurzelpilze hat schon FRANK zum Gedanken bewogen, daß lebenswichtige Funktionen mit der Mycorrhizabildung zusammenhängen. In der Folge dachte man besonders an die Stickstoffixierung, doch haben die kritischen Untersuchungen von MÖLLER (1) für Pinus montana und von BEIJERINCK (2) diese Ansicht wohl widerlegt. Von anderen Seiten ist mehr an irgend eine Aufschließung des Humusstickstoffes gedacht worden (3), und es ist in der Tat nicht unwahrscheinlich, daß der Wurzelpilz durch seinen Anteil an der Ammonisation für die Wirtswurzel günstig wirkt. Doch wird es richtiger sein, wenn wir mit STAHL diese Rolle nicht zu eng fassen und allgemein die Hilfsrolle des Pilzes bei der Aufnahme der löslichen Bodenbestandteile und des Wassers betonen, zumal die Wurzelhaarbildung in solchen Fällen nur gering ist. Sodann dürfte im großen und ganzen die Ansicht zutreffen, daß es sich ursprünglich um einen Parasitismus handelte und der Pilz nach und nach in ein Abhängigkeitsverhältnis zum Wirt geriet. NADSON (4) macht auf Fälle aufmerksam, wo übermäßige Mycorrhizabildung bei Quercus Absterben von Wurzeln verursachte.

Von den außerordentlich verbreiteten Formen der endophytischen Mycorrhiza lassen sich je nach der Art der Ausbreitung des Pilzes in den Zellen verschiedene Bautypen unterscheiden (5), und manche Formen schließen sich direkt an die Wurzelknöllchen an. Die Durchwucherung der Rhizoiden durch Pilze bei Lebermoosen, die nach GARJEANNE (6) durch Mucor rhizophilus zustande kommt, dürfte nur in uneigentlichem Sinne den Mycorrhizen zuzurechnen sein. Bei Farnpflanzen hat man typische Mycorrhizen unter den Polypodiaceen bei Dicksonia und Cyathea kennen gelernt (7), ferner bei Botrychium (8), sowie Psilotum und anderen Lycopodiaceen (9), wo der Symbiont wohl sicher zu den echten Pilzen zählt (10). Der Symbiont in den Luftwurzeln von Cycas bedarf noch näherer Feststellung (11). Von Coniferen sind die Araucarieen, Taxodieen und Cupressineen im Besitze von endophytischer Mycorrhiza. Besser untersucht sind nur die Wurzelanschwellungen von Podocarpusarten, deren Erreger nach HILTNER und SHIBATA (12) unzweifelhaft echten Pilzen, nach NOBBE vielleicht einer Peronosporacee

---

1) A. MÖLLER, Ber. bot. Ges., *24*, 230 (1906). — 2) M. W. BEIJERINCK, Landbouw Tijdskr., 1904. Zugunsten der N-Gewinnung: L. PETRI, Intern. agr.techn. Rdsch., *6*, 1236 (1915). — 3) Vgl. v. TUBEUF, Naturwiss. Ztsch. Land- u. Forstw., *1*, 67 (1903). J. PEKLO, Bull. Int. Ac. Sci. Bohême, Prag (1908), *13*, 1 (Monotropa). — 4) G. A. NADSON, Jahrb. f. Pfl.krank., *2*, 26 (1908). — 5) Vgl. GALLAUD, Rev. Gén. Bot., *17*, 5 (1905). KNY u. MAGNUS, l. c. M. C. RAYNER, The New Phytologist, *15*, 161 (1916). R. CEILLIER, Thèse Paris 1912. — 6) A. J. GARJEANNE, Flora, *102*, 147 (1911). Beiheft. bot. Zentr., *15*, 470 (1903); B. NEMEC, Ebenda, *16*, 253 (1904). Ber. bot. Ges., *17*, 311 (1899). PEKLO, Bull. internat. Ac. Sci. Bohême (1903). — 7) A. E. SCOULLAR u. CLUTE, Fern Bullet., *17*, 24 (1909). — 8) M. MARCUSE, Diss. Jena 1902. — 9) „Pilzdurchlaßzellen" der Prothalliumrhizoiden von Lycopodium: HABERLANDT, Beitr. z. allg. Bot., *1*, 293. — 10) Psilotum: SHIBATA, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 643 (1902). BERNATZKY, zit. bei SHIBATA. SOLMS LAUBACH beobachtete die Psilotummycorrhiza zuerst. — 11) F. ZACH, Österr. bot. Ztsch., *60*, 49 (1910). W. B. BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., *81*, 284 (1909) meint, daß es sich nicht um Pilze, sondern um Bact. radicicola handle. FORELL, Mycorrhizen bei Cordaiten: T. G. B. OSBORN, Ann. of Bot., *23*, 603 (1909). — 12) NOBBE u. HILTNER, Landw. Vers.stat., *51*, 160 (1899). SHIBATA, l. c.

angehört. Die Angabe von SPRATT (1), wonach es sich um Bac. radicicola handelt, steht isoliert.

Dank der Arbeiten von BERNARD, BURGEFF und anderen Forschern ist besonders die endophytische Mycorrhiza der Orchideen in ihrer Erscheinungsweise und Biologie besser bekannt geworden (2). Mit wenigen Ausnahmen ist sowohl bei erd- als bei baumbewohnenden Orchideen die Symbiose eine obligatorische. Bei den meisten epiphytischen Orchideen ist nach BERNARD selbst die Keimung der Samen ohne vorherige Infektion mit dem Mycorrhizapilz nicht ausführbar. Den Pilz aus Orchideenluftwurzeln, den BURGEFF als Orcheomyces beschrieb, konnte BERNARD mit großer Wahrscheinlichkeit in die Gattung Rhizoctonia verweisen, welche wegen der Schnallenanastomosen der Mycelhyphen mit Thelephoreen (Hypochnus) in Zusammenhang gebracht wird. Es handelt sich um mehrere Arten, eine von ihnen der Rh. violacea sehr ähnlich. Nach BERNATZKY gehört die Mycorrhiza der europäischen Erdorchideen zu den Ascomyceten (Hypomyces). Für den Symbionten der saprophytischen japanischen Gastrodia elata nahm KUSANO die Identität mit Armillaria mellea an. Der Symbiont unserer Neottia ist noch nicht bekannt. In den vom Pilz bewohnten Zellen grenzt sich das Protoplasma um die Hyphen mit Cellulosescheiden ab, welche nach dem Absterben des Pilzes zurückbleiben und klumpige oder sternförmige Inhaltskörper aus Cellulose bilden (3).

Über die übrigen zahlreichen Fälle der endophytischen Mycorrhiza ist sehr wenig bekannt (4). Wenn auch für den Fall der Ericaceen (5) durch TERNETZ Hinweise gegeben sind, daß Stickstoffixierung in Kulturen des isolierten Pilzes vorkommt und auch für Podocarpus Stickstoffixierung angenommen wurde, so ist doch im ganzen eine größere Bedeutung solcher Funktionen für die typische endophyte Mycorrhiza wenig wahrscheinlich (6). Größere Geltung hat in neuerer Zeit eine andere, von SHIBATA, W. MAGNUS und anderen Forschern vertretene Auffassung erlangt, welche annimmt, daß die endophytische Mycorrhiza einen Kampf zwischen Wirt und Pilz darstellt, in dem der Wirt nach Analogie der Phagocytose den Parasiten tötet und auflöst, wobei er Nahrungsstoffe gewinnt (7) Dabei würde dieser Annahme nach der Stickstoffgewinnung aus den der Verdauung anheimfallenden Hyphen eine besondere Bedeutung beizulegen sein. Für diese Theorie sehe ich eine Schwierigkeit in der Erklärung der Todesursache der Pilzhyphen, da lebende Zellen durch proteolytische Enzyme nicht angegriffen werden und man noch unbekannte Angriffsstoffe des Wirtes zu supponieren hätte (8).

---

1) E. R. SPRATT, Ann. of Bot., *26*, 801 (1912). — 2) N. BERNARD, Compt. rend., *138*, 828 (1904), 2. Jan. 1906; Orchis (1906), Nr. 1; La Culture des Orchidées dans ses rapports avec la symbiose. Gand 1908. Ann. Sci. Nat. (9), *9*, 1 (1909); *14*, 221, 235 (1911). H. BURGEFF, Die Wurzelpilze der Orchideen. Jena 1909. S. KUSANO, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *4*, Nr. 1 (1911). Ann. of Bot., *25*, 521 (1911). F. CORTESI, Atti Soc. ital. Progr. Sci., *5*, 860 (1912). W. MAGNUS, Jahrb. wiss. Bot., *35*, 205 (1900). E. BERNATZKY, Botan. Zentr., *101*, 145 (1906). Neottia: J. PEKLO, Flora, *96*, 260 (1906). — 3) Vgl. W. MAGNUS, l. c. F. CZAPEK, Sitz.ber. Wien. Ak., *108* (1909). V. VOUK, Bot. Zentr., *123*, 491 (1913). — 4) Asarum: E. J. SCHWARTZ, Ann. of Bot., *26*, 769 (1912). Asclepiadaceae: E. BUSICH, Zool. Bot. Ges., *63*, 240 (1913). Sempervivum: F. ZACH, Wien. Ak., *118*, 185 (1909). Rosaceae: V. BOULET, Compt. rend., *150*, 1190 (1910). Vitis: PETRI, Zentr. Bakt., II, *21*, 544 (1908). Molinia: TUBEUF, Naturwiss. Ztsch. Land- u. Forstw., *1*, 238 (1903) usw. Allgem.: B. C. GRUENBERG, Torrey Bot. Club, *36*, 165 (1909). — 5) RAYNER, Ann. of Bot., *29*, 99 (1915), hält den obligaten Symbionten von Calluna für eine Phoma. — 6) CORTESI, Bull. Soc. Bot. Ital. 1911, p. 217, vertritt bezügl. der Orchideenmycorrhiza die Ansicht, daß wahrscheinlich N-Fixierung eine Bedeutung hat. — 7) Vgl. auch MOREAU, Bull. Soc. Mycol., *29*, 170 (1913). — 8) Von einschlägigem Interesse sind die Infektionsversuche von MAGROU, Ann. Inst. Pasteur,

STAHL und dessen Schüler SCHATZ und WEYLAND (1) halten demgegenüber auch für die endophytische Mycorrhiza an dem Gedanken fest, daß es sich in erster Linie um Gewinnung der Nährsalze handle, wenn die Pflanzen aus der Pilzsymbiose einen Vorteil ziehen. WEYLAND hat den Nachweis geführt, daß mycotrophe Pflanzen allgemein Harnstoff enthalten, der als ein Produkt des Pilzes anzusehen sei. Es sind weitere Erfahrungen nötig um zu entscheiden. welche biochemische Rolle dieser Eigentümlichkeit zuzuschreiben ist. PAVILLARD (2) hat bei seinen Untersuchungen über die Orchideenmycorrhiza die Mycotrophie in biologische Beziehung zur epiphytischen Lebensweise gebracht, indem er annahm, daß der Pilz durch seinen höheren osmotischen Druck eher im Stande sei, auf physiologisch trockenem Substrate das Wasser zu gewinnen als die Wirtspflanze. Ähnliche Anschauungen sind es ja auch, welche STAHL hinsichtlich der mycotrophen Humusbewohner vertrat.

Wie schon HILTNER hervorhob, hat man die eigentümlichen Wurzelanschwellungen der Alnusarten, von Myrica, von Elaeagnus und Hippophaë von der endophytischen Mycorrhiza zu trennen. Der Erreger der oft sehr großen holzigen Knollen an den Alnuswurzeln, der ursprünglich von WORONIN (3) für eine Plasmodiophora gehalten, später meist für einen echten Fadenpilz erklärt worden ist (4), wird jetzt meist als streptothrixartige Mikrobe aus der Gruppe der Actinomyceten beschrieben (5). Nur SPRATT (6) neigt dazu, diesen Symbionten zu Bac. radicicola zu rechnen, welcher in der Knöllchenrinde als stäbchenförmiger Organismus verbreitet ist. Durch die Kulturversuche von HILTNER, später von MÖLLER (7), ist es wohl sichergestellt worden, daß die Erlenknöllchen mit einer ausgiebigen Stickstoffixierung dieser Pflanzen zusammenhängen, so daß sich dieser Fall ganz den Leguminosen anreiht. Myrica scheint ähnliche Verhältnisse bezüglich der Wurzelanschwellungen darzubieten. Die symbiontischen Mikroben werden von PEKLO zu Streptothrix gestellt, von BOTTOMLEY zu Bac. radicicola (8). Die Wurzelanschwellungen der Elaeagnaceen, die übrigens wenig physiologisch untersucht sind, scheinen einen analogen weiteren Fall von Actinomycetenknöllchen darzustellen. Für Elaeagnus hat HILTNER wie für Alnus Stickstoffixierung experimentell nachgewiesen. Die eigentümlichen knöllchenartigen Bildungen an den Wurzeln von Casuarina equisetifolia, die MIEHE (9) als „Rhizothamnien" unterscheidet, beherbergen einen sehr dünnfädigen Pilz, der vielleicht ebenfalls den Actinomyceten zuzurechnen ist.

Von den Algen sind besonders die Cyanophyceen oft als Organismen, die Stickstoff aus der Luft fixieren, genannt worden. Zuerst hat FRANK (10)

32, 37 (1918), bei Solanum tuberosum mit dem Pilz von Dulcamara. Ein Teil der Kartoffelpflanzen (die sonst mycorrhizafrei sind) vernichtete den Pilz, ein anderer Teil ging Symbiose ein.

1) W. SCHATZ, Diss. Jena 1910; H. WEYLAND, Jahrb. wiss. Botan., *51*, 1 (1912). — 2) PAVILLARD, Rev. Scient., *50*, 492 (1912). — 3) WORONIN, Ber. bot. Ges., *3*, 102 (1885). — 4) FRANK, l. c. BRUNCHORST, Unters. bot. Inst. Tübingen, *2*, 162 („Frankia subtilis") (1886). BJÖRKENHEIM, Ztsch. Pfl.krankh., *14*, 128 (1904). F. ZACH, Wien. Ak. Sitz.ber., *117*, I, 973 (1908). — 5) SHIBATA, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 643 (1902). BEIJERINCK, Zentr. Bakt., II, *6*, 6 (1900). HILTNER, Forstl. naturw. Ztsch (1898), p. 415. Nat. Ztsch. Land- u. Forstw., *1*, 12 (1903). J. PEKLO, Zentr. Bakt., II, *27*, 451 (1910). Ber. bot. Ges., *27*, 239 (1909). R. CHODAT, Bull. Soc. Bot. Genève (2), II, 156 (1910). J. WOLPERT, Flora, *100*, 60 (1909). — 6) E. R. SPRATT, Ann. of Bot., *26*, 119 (1912). — 7) A. MÖLLER, Ztsch. Forst- u. Jagdwesen, *44*, 527 (1912). L. HILTNER, Landw. Vers.stat., *46*, 153 (1895). Forstl. Nat.wiss. Ztsch. (1898), Heft 12. — 8) W. B. BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., B, *84*, 215 (1911). Ann. of Bot., *26*, 111 (1912). — 9) H. MIEHE, Flora, *111—112*, 431 (1918). — 10) A. B. FRANK, Ber. bot. Ges., *7*, 34 (1889). Landw. Jahrb. (1888), Heft 2. Bot. Ztg. (1893), p. 146.

für zahlreiche Erdalgenformen, sodann für Cyanophyceen SCHLOESING und LAURENT (1), sowie KOCH und KOSSOWITSCH (2) diesen Gedanken geäußert, in neuerer Zeit HEINZE (3). Doch wendeten bereits GAUTIER und DROUIN (4) gegen SCHLOESING ein, daß es sich möglicherweise um Bacterienwirkungen handle. Für reine Chlorophyceenkulturen: Stichococcus, Chlorella, Chlorothecium haben in der Folge die Arbeiten von KOSSOWITSCH, MOLISCH, KRÜGER und SCHNEIDEWIND (5) erwiesen, daß da keine meßbare Stickstoffbindung vorkommt, und wahrscheinlich gemacht, daß in nicht bacterienfreien Kulturen Bodenbacterien positive Resultate verursachen können. Hinsichtlich der Cyanophyceen hat aber BEIJERINCK (6) die Behauptung von SCHLOESING und LAURENT aufrecht erhalten, und sich darauf gestützt, daß diese Algen, die er zur Gruppe der Oligonitrophilen rechnet, Gegenwart reichlicher organischer Stoffe vermeiden. Dies ist nach den Erfahrungen von PRINGSHEIM (7) richtig, und die bisher genau studierten Blaualgen müssen jedenfalls zu den typisch autotrophen Organismen gezählt werden. Ob man daraus aber auf die Fähigkeit, N zu fixieren, schließen darf, ist eine andere Frage. Die Erfahrungen von BORESCH (8) im hiesigen Laboratorium über die Wirkungen von Stickstoffmangel auf Phormidiumarten, haben nur gezeigt, daß bei Nichtdarreichung von Stickstoffnahrung die Ausbildung des Chlorophylls leidet (9). Jedenfalls werden über diese Verhältnisse erst vollkommen bacterienfreie Kulturen Aufschluß geben können, da man Azotobacter mehrfach in Gemeinschaft mit Algen gefunden hat (10), und BOUILHAC (11) Nostoc punctiforme als Bacteriensymbionten angibt. Auch die Mitteilung von OES (12) über die Stickstoffixierung durch Azolla, wobei die Anabaena eine wesentliche Rolle spielen soll, müßte in bezug auf die Mitwirkung von stickstoffixierenden Bacterien einer Nachprüfung unterzogen werden. Noch zweifelhafter bleiben die Angaben von MAMELI und POLLACCI (13), wonach zahlreiche höhere Grünalgen und auch das Moos Amblystegium irriguum Stickstoff aus der Luft zu fixieren imstande seien.

Es erübrigt uns, die Stickstoffixierung durch Bacterien näher zu betrachten.

A. Assimilation von Stickstoffgas durch freilebende Bacterien (14).

Die ersten Beobachtungen über Stickstoffanreicherung in Bodenproben welche frei von höheren Pflanzen sind, und keine andere Quelle zum Bezuge von Stickstoff besitzen, als die atmosphärische Luft, rühren

---

1) TH. SCHLOESING f. und LAURENT, Compt. rend., *113*, 776, 1059 (1891); *115*, 732 (1892). — 2) A. KOCH u. P. KOSSOWITSCH, Bot. Ztg. (1893), II, 321. HELLRIEGEL, Ztsch. Rüb.zuck.-Ind. (1897). — 3) B. HEINZE, Zentr. Bakt., II, *16*, 640 (1906); Landw. Jahrb., *35*, 889 (1907). — 4) A. GAUTIER u. R. DROUIN, Compt. rend., *113*, 820 (1891). — 5) P. KOSSOWITSCH, Bot. Ztg. (1894), I, 97; H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., 104, I, 793 (1895). W. KRÜGER u. W. SCHNEIDEWIND, Landw. Jahrb., *29*, 771 (1900). — 6) BEIJERINCK, Zentr. Bakt., II, *7*, 562 (1901). — 7) E. PRINGSHEIM, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*. — 8) K. BORESCH, Jahrb. wiss. Botan., *52*, 145 (1913). — 9) Vgl. auch W. MAGNUS u. SCHINDLER, Ber. deutsch. bot. Ges., *30*, 314 (1912). — 10) Mit Volvox: J. REINKE, Ber. bot. Ges., *21*, 481 (1903); mit Oscillarien: H. FISCHER, Zentr. Bakt., II, *12*, 267 (1904). — 11) R. BOUILHAC, Compt. rend., *123*, 828 (1896). BOUILHAC u. GIUSTINIANI, Ebenda, *137*, 1274 (1904); *138*, 293 (1904). — 12) A. OES, Ztsch. Botan., *5*, 145 (1913). Für die Anabaena in Cycaswurzeln: W. B. BOTTOMLEY, Rep. Brit. Assoc. Adv. Sci., 1911, p. 786. — 13) E. MAMELI u. G. POLLACCI, Atti Ist. Bot. Pavia, *15*, II, 159 (1911). — 14) Zusammenfassende Literatur: L. LUTZ, Les microorganismes fixateurs d'azote, Paris 1904; R. H. FRANCÉ, Zentr. Bakt., II, *32*, 1 (1911) über „edaphische Organismen"; H. FISCHER, Ber. bot. Ges., *28*, p. (10) (1910). A. KOCH, Lafars Handb. techn. Mycol., *3*, 1 (1907). H. PRINGSHEIM, Mediz. Klinik (1912), Nr. 2. O. DAMM,

von BERTHELOT (1) her, welcher alsbald den Vorgang auf Mikroben zurückführte, da die N-Fixation im Winter nicht zu beobachten war, und durch Erhitzen auf 100° aufgehoben werden konnte. BERTHELOT bezeichnete direkt Bacterien als die Urheber dieser Stickstoffanreicherung. Ihm folgten darin DÉHÉRAIN und MAQUENNE (2), welche von einem Buttersäureferment in der Ackerkrume berichteten und vielleicht unreine Kulturen wirksamer Clostridien in Händen hatten, sowie GAUTIER und DROUIN (3), während SCHLOESING (4) die Stickstoffixierung auf unbebautem Boden überhaupt in Abrede stellte. Die Arbeiten BERTHELOTS fanden in der Folge durch PAGNOUL, TACKE, IMMENDORFF, ALPE und MENOZZI (5) Bestätigung. Jedoch scheiterten die Bemühungen BERTHELOTS die wirksamen Mikroben zu isolieren, und er kam dazu eine ganze Reihe von Organismen, schließlich auch Schimmelpilze, mit der Stickstoffixierung im Ackerboden in Verbindung zu bringen. Unter diesen Verhältnissen war es ein großer Erfolg, als es WINOGRADSKY (6) 1893 gelang, sein Clostridium Pasteurianum, einen großen, anaeroben, dem FITZschen Bacillus butyricus ähnlichen Bacillus aus verschiedenen Bodenproben zu isolieren, welcher sicher aus einer von Ammoniak usw. sorgfältig befreiten Luft seinen Stickstoffbedarf zu decken vermag, und hierbei in zuckerhaltiger Nährlösung Buttersäuregärung hervorruft. In zwei Versuchen auf einem anfangs absolut N-freiem Substrate, das 4% Zucker enthielt, betrug der N-Gewinn nach 20 bzw. 15 Tagen 28,87 mg und 24,68 mg N. WINOGRADSKY sprach die Vermutung aus, daß das Bacterium im Plasma aus freiem N_2 und nascierendem H_2, der bei der Buttersäuregärung entsteht, zunächst NH_3 bilde. Sehr geringer Zusatz von NH_3 oder Nitrat beschleunigte wohl die Zuckervergärung der Mikrobe, vermehrte jedoch nicht den endlichen N-Gewinn. Organische N-Verbindungen waren wirkungslos. Fügte WINOGRADSKY auf 100 g Zucker mehr als 0,6 g Ammoniak- oder Nitrat-N hinzu, so hörte die Fixierung des Luftstickstoffes gänzlich auf. Unter den von WINOGRADSKY gebotenen Kulturbedingungen band das Clostridium auf je 1 g Glucose etwa 2,5 bis 3 mg Luftstickstoff. Auf Gelatine wuchs das Clostridium in WINOGRADSKYS Kulturen nicht, sondern es mußte auf Möhrenscheiben innerhalb einer flach ausgebreiteten Schichte zuckerhaltiger Flüssigkeit kultiviert werden. Die Lösung bestand aus 1000 g Wasser, 1 g Trikaliumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, 0,01 bis 0,02 g NaCl, $FeSO_4$, $MnSO_4$, 20—40 g Glucose, und $CaCO_3$-Zufügung. Diese in fast allen Böden auf der ganzen Erde nachgewiesene Mikrobe kommt nach WINOGRADSKY in

---

Prometheus, *26*, 522 (1915). EDDELBÜTTEL, Mykolog. Unters. u. Ber., *1*, 256 (1916). Die stickstoffixierenden Bacterien können nach LIPMAN, Bot. Gaz., *51*, 454 (1911), als „Azotobacterien" zusammengefaßt werden.

1) BERTHELOT, Compt. rend., *101*, 775 (1885); *104*, 205, 625 (1887); *106*, 569, 1049, 1214 (1888); *107*, 372 (1888); *108*, 700 (1889); *109*, 277, 417 (1889); *115*, 569 (1892); *116*, 842 (1893). Ann. Chim. et Phys. (6), *30*, 419 (1893). Die N-Fixation durch den Boden wurde auch von NICOLAI, Justs Jahresber. (1883), I, 46, und STRECKER, Journ. Landw., *34*, 1 (1886) bestätigt, doch ohne bestimmte Angabe, daß der freie Luft-N fixiert werde. — 2) DÉHÉRAIN u. MAQUENNE, Bull. Soc. Chim., *39*, 49 (1883). DÉHÉRAIN, Compt. rend., *108*, 781, 873 (1889); *101*, 1273 (1885). Ann. Agron., *12*, 17 (1886). — 3) GAUTIER u. DROUIN, Compt. rend., *106*, 754, 863, 944, 1098, 1174, 1233, 1605 (1888). — 4) TH. SCHLOESING f., ebenda, *106*, 805, 898, 982, 1123 (1888); *107*, 290 (1888); *109*, 210, 345 (1889). BOUSSINGAULT, Agronomie, *7*, 175. — 5) PAGNOUL, Compt. rend., *110*, 910 (1890). B. TACKE, Landw. Jahrb., *18*, 439 (1888). H. IMMENDORFF, Ebenda, *21*, 281 (1892).. ALPE u. MENOZZI, Kochs Jahresber. (1892), 213. — 6) S. WINOGRADSKY, Compt. rend., *116*, 1385 (1893); *118*, 353 (1894). Arch. Sci. Biol. Petersburg, *3*, 297 (1895); Zentr. Bakt., II, *9*, 43 (1902).

der Natur stets mit zwei aeroben Arten vergesellschaftet vor, welche wahrscheinlich zur Herstellung der erforderlichen Sauerstoffarmut der Bodenluft dienlich sind, und hierfür von ihrem Konsorten Stickstoffverbindungen zur Verfügung gestellt erhalten. OMELIANSKY (1) hat in neuerer Zeit das Clostridium Pasteurianum mit dem noch zu erwähnenden Azotobacter in allen Böden Rußlands sehr verbreitet nachgewiesen. Clostridium ist etwas stärker N-bindend als Azotobacter. Es wächst am besten bei 30°, erträgt aber noch gut 75°. Seine Sporen erwiesen sich durch 20 Jahre haltbar.

Außer diesem Clostridium Pasteurianum, welches HASELHOFF und BREDEMANN (2) in verschiedenen Bodenarten Deutschlands in differenten Formen überall vorfanden, von PEROTTI (3) in der römischen Campagna aber nur sehr selten angetroffen wurde, wird N-Fixierung von einer Reihe anderer anaerober Clostridiumformen angenommen. So hat BREDEMANN (4) für die so verbreiteten Formenkreise des Bac. amylobacter Stickstofffixierung in mehr oder weniger hoher Ausbildung angegeben und gefunden, daß man die in künstlicher Kultur verlorengegangene Befähigung zur N-Fixierung durch Passagekultur in steriler Erde wiederherstellen kann. Dasselbe gilt auch für den Bac. asterosporus (5). Auf Moorboden herrschte in den durch RITTER (6) untersuchten Fällen gleichfalls ein anaerobes Clostridium vor. Das durch PRINGSHEIM (7) von der Schale amerikanischer Kartoffeln isolierte Clostr. americanum ist fakultativ aerob und gedeiht auch bei Luftzutritt. Es fixierte qantitativ schwächer N als Pasteurianum, erreichte aber einen höheren Endbetrag. Ein aerobes Clostridium, das aus Gartenerde isoliert wurde, erwies sich weniger wirksam als americanum (8). Als Kohlenstoffquelle waren verschiedene Zucker und Kohlenhydrate geeignet, auch Mannit, besonders in schwächeren Konzentrationen (9). Bei Gegenwart von Salpeter bleibt das Ergebnis der N-Bindung hinter jenem in N-freier Lösung zurück; Cl. americanum hört auf Luft-N zu binden, wenn in der Nährlösung mehr als 0,04 Salpeter-N enthalten sind (10).

Die zweite Gruppe von stickstoffixierenden Erdmikroben, die sich um die als Azotobacter bezeichneten Formenkreise schart, umfaßt nur typisch aerobe Bacterien. Nachdem 1900 durch KRÜGER und SCHNEIDEWIND (11) von den Versuchsfeldern zu Halle ein N-fixierendes Bacterium isoliert worden war, das binnen 62 Tagen 4,6 bis 8,5 g Luft-N in Eiweiß-N überführte, lieferte BEIJERINCK (12) in seiner Arbeit über oligonitrophile Bacterien die genaue Beschreibung zweier hierher zählender Formen. „Oligonitrophil" nennt dieser Forscher jene Bacterien, die in Nährsubstraten „ohne absichtlich zugefügte N-Verbindungen, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen" leben können. Die gewöhnlichen saprophytischen Formen mit großem Bedarf an organischen N-Verbindungen

---

1) OMELIANSKY, Arch. Sci. Biol. Petersburg, *18*, 327, 338, 459 (1915); *19*, 162, 209 (1917). Internat. agr.techn. Rdsch., *8*, 989. — 2) E. HASELHOFF u. G. BREDEMANN, Landw. Jahrb. (1906), *35*, p. 381. — 3) R. PEROTTI, Atti Acc. Linc. (5), *14*, II, 623 (1905). — 4) G. BREDEMANN, Zentr. Bakt., II, *23*, 385 (1909). Ber. bot. Ges., *26*, 362 u. 795 (1908). — 5) G. BREDEMANN, Zentr. Bakt., II, *22*, 44 (1908). — 6) G. A. RITTER, Ebenda, *34*, 577 (1912). — 7) H. PRINGSHEIM, Ebenda, *16*, 795 (1906); *24*, 488 (1909). — 8) ST. ROSENBLAT-LIECHTENSTEIN u. H. PRINGSHEIM, Ebenda, II, *36*, 468 (1913). — 9) H. PRINGSHEIM, Ebenda, *20*, 248 (1907). — 10) Ders., Ebenda, *40*, 21 (1914). — 11) KRÜGER u. SCHNEIDEWIND, Landw. Jahrb., *29*, 801 (1900). — 12) BEIJERINCK, Zentr. Bakt., *7*, 561 (1901). Arch. Néerl. (2), *8*, 190 u. 319 (1903).

faßt BEIJERINCK als „polynitrophile" Arten zusammen, die in der Mitte zwischen beiden Extremen stehenden Formen als „mesonitrophil". Als N-fixierend beschrieb BEIJERINCK zwei große, Diplococcen oder Kurzstäbchen bildende Bacterien, welche er in die neue Gattung Azotobacter einreihte: Az. chroococcum mit rundlichen, meist unbeweglichen, in älteren Stadien oft braun gefärbten Zellen und den lebhaft beweglichen Az. agilis. Beide Formen verlangen sehr geringe Spuren von N-Verbindungen in ihrem Substrate, wenn sie wachsen und Luft-N fixieren sollen. In möglichst N-frei hergestelltem Substrate stand ihr Wachstum bald still. Als Kohlenstoffquelle empfahl BEIJERINCK Mannit, der nur sehr schwierig der Buttersäuregärung anheimfällt. Die Clostridien, oder Granulobacter, wie sie BEIJERINCK nennt (**1**), sind nach ihm mesonitrophil und mikroaerophil, und zeigen angeblich ihre volle Wirksamkeit erst dann, wenn sie als Konsorten von Azotobacter leben.

Die Entdeckung BEIJERINCKs wurde alsbald durch GERLACH und VOGEL, WINOGRADSKY, FREUDENREICH verschiedenen Ortes bestätigt (**2**), und gegenwärtig kennt man eine große Zahl von Formen (LÖHNIS und WESTERMANN (**3**) zählen derer 21 auf), die in die Gattung Azotobacter gehören. Erwähnenswert sind die von LIPMAN und BURGESS (**4**) aus amerikanischen Böden isolierten drei neuen Arten. Az. chroococcum ist aber noch immer die wichtigste Art. Durch die Zellgröße und die dicken Gallerthüllen (**5**) kann dieser Spaltpilz an Cyanophyceen, etwa eine farblose Aphanocapsa, erinnern, und er ist auch durch die oft auftretenden sarcinaartigen Bildungen und Streptococcenverbände auffallend, so daß man die Gruppe Azotobacter auch vom morphologischen Standpunkte aus beibehalten kann (**6**). Seine Morphologie hat PRAZMOWSKI (**7**) ausführlich behandelt. Zur Isolierung der Azotobacterformen benutzt man die günstige Wirkung von Kalk und Mannitlösung auf ihr Wachstum. REMY (**8**) schlug vor, 9 Teile $CaCO_3$ und 1 Teil Calciummonophosphat, mit BEIJERINCKscher Mannitlösung befeuchtet, zu sterilisieren und dann in Petrischalen mit Bodenaufguß zu impfen. In wenigen Tagen entstehen so große, durch den braunen Farbstoff leicht kenntliche Azotobactercolonien. Organischsaure Calciumsalze, wie Malat, Acetat, Lactat, Propionat sind nach BEIJERINCK (**9**) gleichfalls zur Isolierung geeignet. Nach dem Anhäufungsverfahren von GERLACH und VOGEL läßt man 20 g frische Erde in geräumigen bedeckten Schalen mit 100 ccm der Nährlösung (1000 H_2O; 2 Glucose, 0,5 KH_2PO_4, 0,5 NaCl, 0,5 $CaCO_3$, etwas $FeSO_4$) übergossen 2—3 Tage bei 28° stehen. Man findet sodann auf der Oberfläche schwimmende Bacterienmassen, welche oft so

---

1) Vgl. BEIJERINCK u. A. VAN DELDEN, Zentr. Bakt., *9*, 3 (1902). — **2**) GERLACH u. VOGEL, Ebenda, II, *8*, 669 (1902; *9*, 817 (1902); E. v. FREUDENREICH, Ebenda, *10*, 514 (1903). A. KOCH, Verh. Ges. Nat. Karlsbad 1902, I, 182 (1903). Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 1 (1904). — **3**) F. LÖHNIS u. T. WESTERMANN, Zentr. Bakt., *22*, 234 (1908). — **4**) LIPMAN u. BURGESS, Zentr. Bakt., II, *44*, 481 (1915). — **5**) Schleimbildung: R. GR. SMITH, Linn. Soc. N.S.-Wales (1906), p. IV, Oct. 31. — **6**) Systemat. Stellung: LÖHNIS, Zentr. Bakt., II, *42*, 1 (1914). — **7**) A. PRAZMOWSKI, Bull. int. Ac. Sci. Cracovie (1911), p. 739; (1912), 3 B, p. 87. Zentr. Bakt., *33*, 292 (1912). H. FISCHER, Verh. Nat. Hist. Ver. Rheinlande, *62*, 135 (1905). B. HEINZE, Ann. Mycol., *4*, 41 (1906). Az. Vinelandii: J. G. LIPMAN, New Jersey Ex. Sta. Rep. 1908, p. 137. D. H. JONES, Zentr. Bakt., *38*, 14 (1913); *40*, 52 (1914). Proc. Trans. Roy. Soc. Canada, *7*, 43 (1914). Cytologie: BONAZZI, Journ. Agric. Res., *4*, 225 (1915). Variation: JONES, Zentr. Bakt., II, *42*, 68 (1914). Pigmentbildung: HEADDEN, Science, *40*, 379 (1914). — **8**) TH. REMY, Landw. Jahrb., *35*, Erg.bd. IV, p. 1 (1906). — **9**) M. W. BEIJERINCK, Ak. Amsterdam, *17*, 46 (1908).

reichlich Azotobacter enthalten, daß man direkt auf Glucose-Agar (100 H_2O + 2 Agar + 0,2 Glucose + 0,2 KH_2PO_4) ausstreichen kann. Eventuell wird mit 1 ccm der Ausgangskultur das Verfahren mit etwa 50 ccm Nährlösung wiederholt. Leicht alkalische Reaktion des Substrates wirkt günstig (**1**). Auch in gut gelüftetem Quarzsand bei Gegenwart von Mannit oder Lactose und kleinen Mengen $CaCO_3$ wächst Azotobacter in Reinkultur sehr üppig (**2**). Das Maximum der Wirkung beobachtete KRZEMIENIEWSKI (**3**) in frisch mit Erde geimpfter Nährlösung; in Reinkulturen wird die Wirksamkeit geringer. KOCH fand ebenfalls, daß die Kulturen in den ersten Lebenstagen viel mehr N binden als später; 10 mg N auf 1 g Zucker gebunden dürfte für die tatsächliche Leistung zu niedrig bemessen sein. Reiner N-freier Sand, mit Zuckerlösung versetzt, reichert nach Impfung mit Bodenaufschwemmung deutlich Stickstoff an (**4**). Außer Mannit und Glucose zeigen nach STOKLASA auch Pentosane und Arabinose günstige Wirkung (**5**). Versuche mit Nährlösungen stehen bezüglich der N-Fixierung der Wirkung von natürlichen Böden nicht nach (**6**). Bemerkenswert ist die Feststellung von KRZEMIENIEWSKI (**7**), daß natürlicher Humus, obwohl er weder als C- noch als N-Quelle wirkt, das Wachstum von Azotobacter höchst günstig beeinflußt, so daß 17 mg N pro Gramm Glucose gebunden werden. Zuckerhumus hat diese Wirkung nicht. Das Temperaturoptimum war bei diesen Versuchen 28° C, das Minimum 9°; 33° setzte schon herab. Zuckerzusatz erfüllt seine günstige Wirkung als Nährstoff für Azotobacter auch als Zusatz zum natürlichen Boden (**8**). In der Natur spielt die Cellulosezersetzung offenbar eine wichtige Rolle bei der Zuckerbeschaffung für Azotobacter (**9**) und es dürfte deswegen das gemeinsame Vorkommen mit Clostridien, die zur Cellulosespaltung befähigt sind, von Bedeutung sein (**10**). Außergewöhnlich hoher Nitratgehalt des Bodens tötet Azotobacter ab (**11**). Sonst fand HEINZE (**12**) die Azotobacterformen auch in stickstoffreichem Boden gut gedeihend.

---

1) G. S. FRAPS, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 174. — **2**) C. HOFFMANN u. B. W. HAMMER, Zentr. Bakt., *28*, 127 (1910). A. KRAINSKY, Ebenda, *26*, 231 (1910); Lüftungsvorrichtung: P. SCHNEIDER, Landw. Jahrb., *35*, Erg.bd. IV, 63 (1906). Reinkulturmethoden: LIPMAN u. BURGESS, Zentr. Bakt., II, *44*, 481 (1915); JONES, l. c. 1914. — **3**) S. KRZEMIENIEWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1907), p. 746. — **4**) A. KOCH, Journ. f. Landw., *57*, 269 (1909); Zentr. Bakt., *31*, 570 (1911). Über die günst. Wirk. v. Glukose auch W. B. BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., B, *82*, 627 (1910). Dextrin: BOTTOMLEY, Ebenda, *85*, 466 (1912). — **5**) J. STOKLASA, Zentr. Bakt., II, *21*, 484 (1908). FR. STRANAK, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *33*, 599 (1909). — **6**) H. GREEN, Zentr. Bakt., *41*, 577 (1914). — **7**) S. KRZEMIENIEWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1908), p. 929. G. RÖSING, Zentr. Bakt., *33*, 618 (1912); A. DZIERZBICKI, Anzeig. Ak. Krakau (1910), p. 21; H. KASERER, Nat. Ges. (1911), II, *1*, 292; J. DVOŘÁK, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *15*, 1077 (1912). F. LÖHNIS u. H. GRÊEN, Zentr. Bakt., *40*, 52 (1914). Über organische Nahrung ferner: PUTNAM, The Bacteria of Nebraska Soil, Lincoln 1913; MULVANIA, Science, *42*, 463 (1915). Wachstum in reinem Äther (?): MOCKERIDGE, Biochem. Journ., *9*, 272 (1915); CAUDA, Staz. sper. agr. ital., *49*, 125 (1916); WILLIAMS, Zentr. Bakt., *45*, 386 (1916). — **8**) A. KOCH, Mitteil. Deutsch. Landw. Ges., *12*, 117 (1907). A. KOCH, LITZENDORFF, KRULL u. ALVES, Journ. f. Landw., *55*, 355 (1907). — **9**) Vgl. MC BETH, Bur. of Plant. Ind. Wash., *131*, C, 25 (1914). CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., *43*, 1 1915). — **10**) Vgl. H. PRINGSHEIM, Biol. Centr., *31*, 65 (1911) und OMELIANSKY, Arch. Sci. biol. Inst. Imp. méd. Petrograd, *19*, 162 (1916). — **11**) W. G. SACKETT, Zentr. Bakt., *34*, 64 u. 81 (1912). Nachweis, daß Azotobacter nicht nitrifiziert: KELLERMAN u. SMITH, Zentr. Bakt., *40*, 479 (1914); HEADDEN, l. c. (1914). Düngung mit Salpeter: DÜGGELI, Viertelj.schr. Naturf. Ges., Zürich, *62*, 394 (1917). — **12**) B. HEINZE, Landw. Jahrb., *35*, 889 (1907). HANZAWA, Zentr. Bakt., *41*, 573 (1914).

Der Mineralstoffgehalt des Substrates beeinflußt das Leben von Azotobacter sehr stark (**1**). Besonders das Kalkbedürfnis ist, wie viele Untersucher gezeigt haben (**2**), sehr ausgeprägt vorhanden. Der förderliche Einfluß von Phosphaten ist mehrfach sichergestellt (**3**). Die früher behauptete Entbehrlichkeit von Kali für Azotobacter ist widerlegt (**4**). Trotz der relativ großen Resistenz von Azotobacter kann in Alkalisalzböden Schädigung erfolgen, wobei Carbonate am schädlichsten wirken, Alkalisulfat am wenigsten (**5**). Auch die Wirkungen des Salzantagonismus treten bei Azotobacter nur schwach hervor (**6**). In der Literatur sind sodann Angaben über Förderung durch Eisen- und Mangansalze vorhanden (**7**); nach STOKLASA soll radioaktive Luft die N-Fixierung begünstigen (**8**). PRAZMOWSKI (**9**) berichtet, daß Metallhydroxydsole, Silicate, Carbonate keine fördernde Wirkung entfalten. Über Hemmungen und Stimulation durch verschiedene organische Stoffe vgl. REED und WILLIAMS (**10**).

Während manche Forscher, wie HEINZE, der Meinung sind, daß es Böden, in denen Azotobacter fehlt, überhaupt nicht gibt, vermißte KOCH in nicht wenigen Feld- und Waldböden diese Bacterien; solche Böden hatten auch nicht die Fähigkeit, nach Zuckerzusatz N anzureichern. THIELE (**11**) vermißte Azotobacter in hochgelegenen Gebirgsböden. RITTER (**12**) konnte Azotobacter in Moorböden nicht finden, sondern nur anaerobe Clostridien. In wärmeren Ländern dürfte er ebenso in der alten, wie in der neuen Welt verbreitet sein (**13**). Von tropischen Ländern ist Java näher untersucht. KUIJFF (**14**) gab an, daß er Azotobacter nur sehr selten bei der bacteriologischen Bodenanalyse angetroffen habe, hingegen aber eine Reihe von neuen fakultativ anaeroben Formen, die zur Stickstoffixierung befähigt sind. LÖHNIS und PILLAI geben für die N-fixierende Flora von südindischen Reisfeldern gleichfalls Azotobacter nicht an, sondern Bacterien aus der Pneu-

---

1) F. LÖHNIS u. N. K. PILLAI, Zentr. Bakt., II, *20*, 781 (1908). — **2**) S. u. H. KRZEMIENIEWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1906), p. 560. H. R. CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., II, *19*, 735 (1907). H. FISCHER, Journ. f. Landw. (1905), p. 61 u. 289; Zentr. Bakt., *14*, 33 (1905). BEIJERINCK, Akad. Amsterdam, *17*, 46 (1908). F. A. MOCKERIDGE, Ann. of Bot., *26*, 871 (1912). CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., *43*, 1 (1915); Tidskr. Landbr. Plante avl., *21*, 321 (1914); WEIS u. BORNEBUSCH, Forstl. Forsögsvaes., *4*, 319 (1914). — **3**) B. HEINZE, Zentr. Bakt., II, *14*, 171 (1905). A. DZIERZBICKI, Anzeig. Ak. Krakau (1910), p. 21. Vgl. auch C HOFFMANN, Zentr. Bakt., II, *36*, 474 (1913) über den Phosphorgehalt und Proteingehalt von Azotobacter. — **4**) H. KRZEMIENIEWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1908), p. 445; GERLACH u. VOGEL, Zentr. Bakt., II, *10*, 636 (1903). — **5**) CH. B. LIPMAN u. L. T. SHARP, Ebenda, *35*, 647 (1912). N-Fixierung in Coloradoböden reichlich: HEADDEN, Colorado Agr. Coll. Bull., *186*, 1 (1913). Förderung durch Phosphate, $MgSO_4$: CAUDA, Staz. sper. agr. ital., *49*, 125 (1916). — **6**) Vgl. LIPMAN u. BURGESS, Zentr. Bakt., *42*, 502 (1914); Journ. Agr. Sci. *6*, 484 (1914). — **7**) Mangan: J. STOKLASA, Zentr. Bakt., II, *21*, 484 (1908). ROCASOLANO, Intern. agr.techn. Rdsch., *7*, 739 (1916). Eisen: G. RÖSING, Zentr. Bakt., *33*, 618 (1912). Stimulation durch Arsen: GREAVES, Zentr. Bakt., *42*, 244 (1914); Journ. Agr. Res., *6*, 389 (1916). — **8**) J. STOKLASA, Compt. rend., *157*, 879 (1913). — **9**) A. PRAZMOWSKI, Anzeig. Ak. Krakau (1912), p. 855. — **10**) H. S. REED u. WILLIAMS, Zentr. Bakt., *43*, 166 (1915). Die Förderung durch „bacterisierten“ Torf führt BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc. Lond., B, *88*, 237 (1914); *89*, 102 (1915); Bot. Journ., *3*, 49 (1914), Ann. of Bot., *28*, 531 (1914) auf Vitamine zurück. — **11**) R. THIELE, Landw. Vers.stat., *63*, 161 (1905). — **12**) G. A. RITTER, Zentr. Bakt., *34*, 577 (1912). Desgleichen TH. ARND, Zentr. Bakt., II, *45*, 554 (1916). — **13**) Italien: R. PEROTTI, Acc. Linc. Roma (5), *14*, II, 623 (1905). Amerika: W. G. SACKETT, Zentr. Bakt., *34*, 64 (1912); E. G. PETERSON u. E. MOHR, Ebenda, *38*, 494 (1913); *40*, 169 (1914). LIPMAN u. BURGESS, Zentr. Bakt., II, *44*, 481 (1915). In Europa: H. R. CHRISTENSEN, Ebenda, *17*, 109 (1906); *43*, 1 (1915). SCHNEIDEWIND, Kühn-Archiv, *5*, 57 (1914); Rußland: OMELIANSKY, Arch. Sci. Biol. Inst. Imp. méd. Petrograd, *19*, 162 (1916). — **14**) E. DE KRUIJFF, Bull. Dep. Agr. Ind. Néerl., *30*, 18 (1909); ib. 1906; Zentr. Bakt., II, *26*, 54 (1910).

moniae-Gruppe (**1**). Es ist aber nach GROENEWEGE (**2**) anzunehmen, daß an geeigneten Orten auch in den Tropen Azotobacter nicht selten anzutreffen ist.

Nach den Untersuchungen von BENECKE und KEUTNER (**3**) ist ferner sowohl Clostridium Pasteurianum als Azotobacter chroococcum im Schlick des Meeresgrundes und im Plankton der Ostsee nachzuweisen. Das Clostridium fehlte mitunter in Planktonproben, der Azotobacter wurde nie vermißt. Für eine damit vergesellschaftete Form, ein sehr großes Clostridium, konnte der Nachweis einer N-Fixierung nicht erbracht werden. Nach KEDING (**4**) lebt Azotobacter regelmäßig epiphytisch auf Algen in der westlichen Ostsee. Im Dünensande des Strandes wurde er besonders in der Nähe der Strandhaferwurzeln reichlich angetroffen. Er verträgt bis 8% NaCl-Gehalt des Bodens. In den Mooren des Strandgebietes hingegen wurde er vermißt. Daß Azotobacter chroococcum auch im Mittelmeere vorkommt, hat BENECKE (**5**) gezeigt. Wie KEUTNER fand, fehlen Azotobacter und Clostridium auch im Süßwasserplankton nicht. Besonders im schleimigen Überzuge von Fadenalgen scheinen N-fixierende Bacterien reichlich vorzukommen (**6**).

Nach BEIJERINCK spielen Konsortien mit anderen Bacterien auch bei Azotobacter eine Rolle. BEIJERINCK und VAN DELDEN fanden Gemische von Azotobacter chroococcum mit Aerobacter aerogenes (Bacillus lactis aerogenes) und Bac. radiobacter stark wirksam und nahmen an, daß die beiden Konsorten des Azotobacter durch letzteren das Vermögen der N-Bindung erlangen. Von STOKLASA (**7**) ist jedoch Radiobacter als ein denitrifizierender Organismus angesprochen worden, welcher keinen Stickstoff bindet, sondern N_2 freimacht. Über manche andere als Stickstoff fixierend beschriebene Bacterien sind noch genauere Untersuchungen abzuwarten. So gab KASERER (**8**) für den von ihm isolierten Bac. Hiltneri an, daß er Cyanide in N_2 und CO_2 zerlegt und durch Umkehr dieser Reaktion imstande ist, in zuckerhaltiger Lösung N zu fixieren. PEROTTI (**9**) beschrieb Pseudomonas leuconitrophilus aus der römischen Campagna als eine Mikrobe, die in BEIJERINCK-Nährlösung geringe Stickstoffmengen fixiert. PRINGSHEIM (**10**) berichtete über thermophile N-assimilierende Bacterien. Den CAROŃschen Bac. Ellenbachensis, auch Alinitbacillus genannt, eine dem Bac. megatherium ähnliche, doch mit Bac. anthracis verwandte Form, hat man endgiltig aus der Reihe der Stickstoff fixierenden Bacterien zu streichen (**11**). Auch die Bacterienkulturen von KÜHN-Charlottenburg haben sich als unwirksam erwiesen (**12**).

---

1) F. LÖHNIS u. N. K. PILLAI, Zentr. Bakt., II, *19*, 87 (1907); J. H. WALTON, Mem. Dep. Agr. India Bact. Ser., *1*, 98 (1915). — **2**) J. GROENEWEGE, Med. Proefstat. Java Suik. Ind. (1913), p. 241. — **3**) W. BENECKE u. J. KEUTNER, Ber. bot. Ges., *21*, 333 (1903). REINKE, Ebenda, p. 371, *22*, 95 (1904). J. KEUTNER, Wiss. Meeresuntersuch. Abt., Kiel, NF. Bd. VIII (1904). — **4**) M. KEDING, Wiss. Meeresuntersuch., N. F. IX (1908). — **5**) W. BENECKE, Ber. bot. Ges., *25*, 1 (1907). — **6**) Vgl. HOFER, Mitteil. dtsch. landw. Ges., 1915, p. 13. H. FISCHER, Zentr. Bakt., II, *46*, 304 (1916). — **7**) J. STOKLASA, Biochem. Zentr., *5*, 457 (1906); Ber. bot. Ges., *24*, 22 (1906). H. FISCHER, Ebenda, *35*, 423 (1917). — **8**) H. KASERER, Verh. Nat.forsch. Ges. (1906), II, *1*, 171; Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *10*, 37 (1907). — **9**) R. PEROTTI, Annal. di Botan., *4*, 213 (1906). VOLPINO, Zentr. Bakt., II, *15*, 70 (1905). — **10**) H. PRINGSHEIM Ebenda, *31*, 23 (1911). — **11**) Lit. E. CARON, Landw. Vers.stat. *44*, 401 (1895); STOKLASA u. VITEK, Zentr. Bakt., *8*, 257 (1901). KOLKWITZ, Ebenda, *5* (1899); SEWERIN, Ebenda, *9*, 712 (1902). BAYER, Chem. Zentr. (1902), I, 366; C. SCHULZE, Landw. Jahrb., *30*, 319 (1901); KRÜGER u. SCHNEIDEWIND, Ebenda, *28*, 579 (1899). B. HEINZE, Zentr. Bakt., II, *8*, 391 (1902). BR. TACKE, Chem. Zentr. (1901), II, 555; L. MALPEAUX, Ann. Agron. (1901), 191. E. JAKOBITZ, Ztsch. Hyg., *45*, 97 (1903). — **12**) P. WAGNER, Dtsch. landw. Presse, *45*, 49, 55 (1919). VOGEL, Ebenda, 1917, p. 522. H. FISCHER, Westpreuß. landw. Mitt., *22*, 3 (1917).

Über die praktische Bedeutung der bacteriellen Stickstoffixierung ist viel geschrieben worden (**1**), und manche übertriebene Vorstellungen über Rolle und landwirtschaftliche Ausnutzung solcher Prozesse sind im Laufe der Zeit auf das richtige Maß beschränkt worden. Man hat sich vor Augen zu halten, daß es sich um langsam und stetig verlaufende Naturprozesse handelt, die erst in relativ sehr langer Zeit zu namhaften Effekten führen, andererseits aber andauernde Wirkungen hervorbringen. Deswegen hat man nicht zu erwarten, daß die Bodenimpfung mit freilebenden Stickstoff fixierenden Bacterien eine nennenswerte praktische Wichtigkeit erlangen wird (**2**). Kritik ist auch deswegen sehr am Platze, weil mit dem Regen und Schnee im Laufe der Zeit, besonders in der Nähe von Städten, nicht unbeträchtliche Ammoniakmengen in den Boden gelangen müssen, deren Wirkungen sich in nicht unmittelbar zu übersehender Weise zu der bacteriellen Wirkung addieren werden. Ziemlich unklar in ihrer Bedeutung sind die in der Literatur vorhandenen Angaben über Stickstoffbindung durch sterilisierten, sehr porösen Boden von mäßig hohem Wassergehalt, die nicht unbestritten geblieben sind (**3**).

Nach den vorliegenden Angaben (**4**) ist die Stickstoffixierung im Boden bei mittlerem Feuchtigkeitsgehalt am lebhaftesten. In Böden von höherem Feuchtigkeitsgehalt scheinen die aerophilen Formen zurückzutreten, während sie in den minder wasserhaltigen Böden gegenüber Clostridium vorherrschen.

J. Kühn hat auf den namhaften Effekt der Stickstoffixierung im Boden an der Hand eindrucksvoller Daten aufmerksam gemacht. Eine 20 Jahre ohne N-Düngung verbliebene Versuchsparzelle hatte jährlich einen Durchschnittsertrag von 1976 kg Körnern pro Hektar geliefert, und es konnte nicht nur keine Verminderung des jährlichen Ernteertrages infolge allmählichen Verbrauches des Düngerstickstoffes im Laufe der Jahre festgestellt werden, sondern eine Steigerung der Körnerproduktion von 11,6%. Die jährliche Roggenernte entnahm pro Hektar dem Boden 25—30 kg Stickstoff, und diese N-Menge mußte der atmosphärischen Luft entstammen. Nach der Schätzung Kühns wurden dem Versuchsfelde jährlich 66 kg N durch die Tätigkeit der Bodenmikroben pro Hektar zugeführt. Übrigens speichert auch das abgefallene Laub des Waldbodens ganz beträchtliche Quantitäten N durch die Wirkung der darin lebenden Mikroben (**5**) und Henry schätzte die durch Eichen- und Buchenlaub jährlich pro Hektar gespeicherte N-Menge auf 13 resp. 22 kg. Die Stickstoff fixierenden Bacterien scheinen nach den von A. Koch (**6**) angeführten Beobachtungen von Behrens sich schon auf den kahlen Steinen der Weinberge reichlich anzu-

---

1) Vgl. Th. Pfeiffer, Stickstoffsammelnde Bacterien, Brache und Raubbau, Berlin 1904; Löhnis, Zentr. Bakt., *15*, 361 (1905). Vogel, Ebenda, p. 33; Schneidewind, Ebenda, *21*, 437 (1908); A. Koch, Journ. f. Landw., *57*, 269 (1909); A. Nowacki, Dtsch. landw. Presse, *38*, 166 (1911); P. Ehrenberg, Fühlings landw. Ztg., *62*, Heft 13, p. 449 (1913). H. Fischer, Zentr. Bakt., II, *22*, 654 (1909). F. Marshall, Die Naturwiss., *1*, 791 (1913). Bodenklima: Th. Remy, Zentr. Bakt., II, *22*, 561 (1909). — **2**) Bodenimpfung: E. B. Vorhees u. J. G. Lipman, Journ. Amer. Chem. Soc., *27*, 556 (1905); Lipman, Zentr. Bakt., II, *21*, 541 (1908); J. Stoklasa, Österr. Chem.-Ztg., (2), *12*, 128 (1909). W. B. Bottomley, Proc. Roy. Soc., B, *81*, 287 (1909). — **3**) H. Warmbold, Diss. Göttingen (1905); Zentr. Bakt., II, *20*, 121 (1907); Landw. Jahrb., *35*, 1 (1906). Th. Pfeiffer, P. Ehrenberg u. Reichenbach, Mitteil. Landw. Inst. Breslau, *3*, 899 (1906). — **4**) A. E. Traaen, Zentr. Bakt., II, *45*, 119 (1916). Lipman u. Sharp, Bot. Gaz., *59*, 402 (1915). — **5**) J. Kühn, Fühlings landw. Ztg. (1901), p. 2. Kochs Jahresber., *12*, 366 (1901). Die Aktivität in kultiviertem und jungfräulichem Boden von Utah: Greaves, Zentr. Bakt., II, *41*, 444 (1914). — **6**) Henry, zit. bei Koch, l. c., p. 195. L. Montemartini, Staz. Sper. Agr. Ital., *38*, 1060 (1906).

siedeln und so die ersten Anfänge der Vegetation auf dem unbewachsenen Gestein zu vermitteln. MOLÈR (1) gibt an, daß Azotobacter durch Erdamöben sehr gern aufgezehrt wird und der gebundene N auf diesem Wege seinen organischen Kreislauf beginnt.

Hinsichtlich der theoretisch-chemischen Seite der bacteriellen N-Fixierung (2) befinden wir uns noch nicht einmal im Beginn der Forschung. Es wurde schon erwähnt, daß WINOGRADSKY bei den Clostridien aus nascierendem H_2 und N_2 Ammoniak entstehen läßt. BONNEMA (3) dachte, daß der primäre Prozeß eine durch katalytische Wirkung des Eisenoxydhydrates im Boden bedingte Oxydation des N_2 zu N_2O_3 sei, und erst die gebildete salpetrige Säure von den Bacterien assimiliert werde. STOKLASA übertrug die Hypothese von der reduzierenden Wirkung gleichzeitig entstehenden H_2 auf den Luft-N_2 auf die Aktion von Azotobacter, bei dem er H_2-Bildung nachgewiesen zu haben meint. Da aber nach anderen Untersuchungen nur CO_2 als Atmungsprodukt erscheint, so liegt es nahe anzunehmen, daß STOKLASAS Kulturen Beimengungen anderer Mikroben enthalten haben. Es ist auch darauf hingewiesen worden (4), daß möglicherweise der Stickstoff fixierende Vorgang mit einer Umkehr des bekannten Zerfalles von Ammoniumnitrit zu N_2 und H_2O identisch sein könne und Ammoniumnitrit direkt aus dem N_2 entstehen könne. Obwohl dieser Vorgang chemisch möglich ist, so fehlen alle Anhaltspunkte für solche Hypothesen. Der Nachweis von Nitrit in den N assimilierenden Wurzelknöllchen (5) kann nicht eindeutig auf solche Vorgänge bezogen werden.

Man kennt verschiedene sehr interessante Synthesen von Ammoniak aus seinen Elementen unter der katalytischen Wirkung von Metallen (6), auch Salpetersäuresynthese aus den Elementen bei gewöhnlicher Temperatur unter dem Einfluß dunkler elektrischer Entladung (7), selbst Bildung von Ammoniumnitrit durch Katalyse mit Platinschwarz (8), doch haben bisher diese Erfahrungen, ebensowenig wie die modernen Methoden zur Ausnutzung des Luft-N (9) eine Wichtigkeit zum Verständnis der bacteriellen N-Fixierung erlangen können.

Auf die Methodik, die speziell zur Stickstoffbestimmung im Boden und zur Eruierung kleinster N-Gewinne in neuester Zeit ausgearbeitet worden ist, kann hier nicht eingegangen werden. MITSCHERLICHS Arbeiten (10) sowie die Untersuchungen von THIELE und anderen Forschern (11) werden hierüber zu vergleichen sein.

Das Argon der Luft ist nach den Feststellungen von SCHLOESING (12)

---

1) T. MOLÈR, Bot. Notis. (1915), p. 163. — 2) A. KOCH, Verh. Ges. Nat. (1902), I, 182 (1903). Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 1 (1904). — 3) A. BONNEMA, Chem.-Ztg., *27*, 148, 825 (1903). Zentr. Bakt., *10*, 598 (1903). — 4) F. CZAPEK, Ergebn. d. Physiol., *2*, I, 644 (1903). Andere Möglichkeiten sind erwogen bei B. HEINZE, Zentr. Bakt., II, *12*, 364 (1904). — 5) R. KLEIN, Beih. bot. Zentr., *30*, I, 141 (1913). — 6) Durch Eisen: E. PH. PERMAN, Roy. Soc. Lond., *76*, A, 167 (1905). Nickeloxyd: L. BRUNEL u. P. WOOG, Compt. rend., *145*, 922 (1907). Anorganische Ammoniaksynthese: SERPEK, Verh. Naturf. Ges., 1913, II, *1*, 394. — 7) BERTHELOT, Compt. rend., *142*, 1367 (1906). — Stickstoffaufnahme von Alkohol unter dem Einfluß stiller Entladung mit NH_3-Bildung: W. LÖB, Biochem. Ztsch., *20*, 136 (1909). — 8) O. LOEW, Journ. Agric. Sci., *3*, Pt. III (1909). — 9) Vgl. A. NEUBERGER, Ztsch. angew. Chem., *18*, 1761 (1905). M. BODENSTEIN, Ebenda, *19*, 14 (1906). — 10) E. A. MITSCHERLICH, Landw. Vers.stat., *70*, 405 (1909). Landw. Jahrb., *38*, 533 (1909). Ztsch. angew. Chem., *22*, 631 (1909). Landw. Jahrb., *39*, 345 (1910). — 11) THIÈLE, Zentr. Bakt., *15*, 498 (1905). CH. S. LIPMAN u. PRESSEY, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 143 (1913); A. HUTIN, Ann. Chim. anal. appl., *18*, 426 (1913); zur N-Bestimmung noch: P. L. HIBBARD, Journ. Ind. Eng. Chem., *2*, 463 (1910); H. R. ELLIS, Chem. News, *102*, 187 (1911). — 12) TH. SCHLOESING f. Compt. rend., *125*, 719 (1897).

an dem Kreislaufe der Stoffe durch die pflanzlichen Organismen in keiner Richtung beteiligt.

§ 8.

Fortsetzung: **Assimilation von Stickstoffgas durch symbiontisch lebende Bacterien (1).**

Relativ sehr spät begann die uralte Erfahrung, daß manche Pflanzen wie die Leguminosen, den Reichtum an Bodendüngerstoffen steigern (schon die antiken landwirtschaftlichen Schriftsteller berichten davon), in der modernen Biologie eine Rolle zu spielen. Die älteren Forscher, wie THAER, DAVY (2), BERZELIUS, bei denen sich übrigens der Verdacht auf Bindung von Luft-N durch diese Pflanzen schon ausgesprochen findet, befassen sich nicht näher mit dieser Frage, ebensowenig SAUSSURE. Erst BOUSSINGAULT (3) trat 1838 an diese Angelegenheit heran, und es ist von hohem historischen Interesse und viel zu sehr vergessen worden, daß sich in den ersten Arbeiten dieses bedeutenden Mannes die viel später von HELLRIEGEL mühsam neugefundenen Differenzen zwischen der Stickstoffernährung der Leguminosen (Klee, Erbsen) und Getreide (Weizen, Hafer) vollständig richtig ausgesprochen finden. Es heißt daselbst: „Man findet 1. daß bei der Keimung weder Klee noch Weizen einen Gewinn oder Verlust an N zeigen, der sich durch die Analyse nachweisen ließe; 2. daß während der Keimung diese Samen Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff verlieren und daß jedes dieser Elemente in dem Verhältnis, in welchem diese Verluste stattfinden, in seiner Menge während der einzelnen Keimungsstadien Schwankungen zeigt; 3. daß während der Kultur von Klee in einem absolut düngerfreien Boden und unter alleinigem Einflusse der Luft und des Wassers, diese Pflanzen C, H, O, und eine durch die Analyse feststellbare Menge N gewinnen; 4. daß der Weizen, genau unter denselben Bedingungen gezogen, an die Luft und an das Wasser C, H und O abgibt, aber die Analyse nach Beendigung der Kultur dieser Getreidepflanze weder einen Gewinn noch einen Verlust an Stickstoff konstatieren kann.“ Und weiter: „Die Versuche zeigen, 1. daß die Erbsen, welche in einen absolut unfruchtbaren Boden gesät und mit reinem Wasser begossen worden waren, sich vollständig entwickeln konnten und alle Phasen der Vegetation durchlaufen konnten, bis die Samen zur Vollreife gediehen. Der Stickstoff gehört zu denjenigen Elementen, welche dem Wasser oder der Atmosphäre entnommen und von der Pflanze assimiliert werden; 2. daß der Klee, welcher in einem fruchtbaren Boden sich entwickelte und in der Folge ohne Mitwirkung von toter organischer Substanz kultiviert wurde, ebenso Stickstoff fixiert hatte; 3. daß der Hafer, von einem gedüngten Boden weggenommen und unter die nämlichen Bedingungen gestellt, wie der Klee, der Luft

---

1) Zusammenfassung: L. HILTNER, Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 24 (1907). — 2) H. DAVY, Element. Agrik. Chem. (1814), p. 412 sagt: „Erbsen und Bohnen scheinen in allen Fällen sehr geeignet, einen Boden für Weizen zuzubereiten und in manchen reichen Gegenden, wie in dem aufgeschwemmtem Erdreich von Parret (am Fuße der südlichen Dünen in Sussex) werden eine Reihe von Jahren hindurch abwechselnd die Felder mit ihnen bestellt. Erbsen und Bohnen enthalten eine geringe Menge einer dem Eiweißstoffe analogen Substanz; es scheint aber, daß dieser Stickstoff, welcher einer Bestandteil dieser Substanz ausmacht, von der Atmosphäre herrühre.“ — 3) BOUSSINGAULT, Compt. rend., *6*, 102; *7*, 889 (1838). Ann. Chim. et Phys. (2), *67*, 1; *69*, 353 (1838). Die Landwirtschaft in ihrer Beziehung zur Chemie. Deutsch von GRAEGER, 2. Aufl., *1*, 48 (1851).

wohl Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff entzog, ohne aber Stickstoff zu assimilieren, indem die Analyse im Gegenteil einen kleinen Verlust an diesem Stoffe erwies."

BOUSSINGAULT mißtraute jedoch mit der weiteren Vervollkommnung seiner Versuchstechnik diesen Erstlingsversuchen und ließ sie später unbeachtet, wozu auch die ungünstige Aufnahme seiner Arbeiten (1) beigetragen haben mochte, welche gerade in die Zeit der LIEBIGschen Theorien von der Ammoniakgewinnung aus der Atmosphäre fielen. Die späteren Arbeiten von VILLE (2), welche BOUSSINGAULT widerlegte, sprachen den Gegensatz zwischen Leguminosen und Nichtleguminosen nicht in der präzisen Art aus, in der sich BOUSSINGAULT zuerst geäußert hatte. Und als der letztgenannte Forscher für Helianthus und andere Objekte durch genaue Versuche gezeigt hatte, daß sich für die Annahme einer N-Bindung durch Phanerogamen keine wissenschaftlichen Argumente beibringen lassen, wurde auch die Frage nach der Eigenart der Leguminosen bezüglich der N-Düngung nicht weiter bearbeitet. Nur LAWES und GILBERT (3) waren es, die, ihre Dezennien hindurch währenden Kulturversuche zu Rothamsted fortsetzend, die Anreicherung des Ackerbodens an Stickstoff bei fortgesetzter Kultur von Leguminosen dauernd im Auge behalten hatten.

In das Jahr 1886 fällt der Abschluß der denkwürdigen Untersuchungen von HELLRIEGEL und WILFARTH über diese Frage, worüber HELLRIEGEL in jenem Jahre zuerst Bericht erstattete (4). Die beiden Forscher stellten aufs neue die Sonderstellung der Leguminosen bezüglich ihres Verhaltens zur Stickstoffdüngung fest, zu ihren Untersuchungen wiederum veranlaßt durch die landwirtschaftlichen Erfahrungen mit Leguminosenkulturen, welche namentlich SCHULZ-LUPITZ (5) in neuerer Zeit eingehend erörtert hatte. SCHULZ-LUPITZ hatte auch die Einteilung der Kulturgewächse in „Stickstoffzehrer" und „Stickstoffsammler", zu welchen letzteren er alle Leguminosen rechnete, neuerlich betont. HELLRIEGELS großes Verdienst ist es, 1. die Stickstoffanreicherung durch die Leguminosen endgültig außer Zweifel gestellt zu haben und die isolierte Stellung dieser Gruppe in diesem Verhalten nachdrücklich betont zu haben; 2. den Zusammenhang dieser stickstoffbindenden Tätigkeit mit der Ausbildung von Wurzelknöllchen an diesen Gewächsen erkannt zu haben, was vordem noch keinem Forscher gelungen war; 3. konnten HELLRIEGEL und WILFARTH zeigen, daß die Bildung von Wurzelknöllchen durch Darreichung von Bodenaufguß in knöllchenfreien Kulturen erzwungen

---

1) Vgl. die Kritik von MEYEN in dessen „Jahresbericht" (1838), p. 2. Auch MULDER, welcher früher (Journ. prakt. Chem., *32*, 344 (1844) N-Fixierung durch die Pflanzen angenommen hatte, zog später seine Meinung zurück. — 2) VILLE, Compt. rend., *34*, 104; *36*, 469, 650; *38*, 705, 723; *41*, 757 (Bericht der Kommission der Akademie zu Paris; Ann. Chim. et Phys. (3), *49*, 197 (1857). — 3) J. B. LAWES u. GILBERT, Journ. Chem. Soc., *47*, 380 (1886). — 4) HELLRIEGEL, Tagebl. Nat.forsch. Vers. Berlin (1886), p 290. Chem. Zentr. (1886), p. 871. WILFARTH, Tagebl. Nat.-forsch. Vers. Wiesbaden (1887), p. 362. H. HELLRIEGEL u. H. WILFARTH, Ztsch. Ver. Rüb.Zuck.Ind., Nov. 1888, Beilageheft (234 pp.). Ber. bot. Ges., *7*, 138 (1889). WILFARTH, Verh. Nat.forsch. Vers. Bremen, *2*, 549 (1890). HELLRIEGEL, Forsch. Agr. Phys., *10*, 63 (1887). — 5) SCHULZ-LUPITZ, Landw. Jahrb. (1881), Heft 5—6. Die Kalidüngung auf leicht. Boden (1888). Justs bot. Jahresber. (1883), I, 51. MAERCKER, Ebenda, p. 48. Früher: J. H. GILBERT, Justs Jahresber. (1877), p. 681. E. GATELLIER, Biederm. Zentr. Agr. Chem. (1879), p. 305. W. O. ATWATER, Amer. Chem. Journ., *6*, 365 (1886). Landw. Jahrb. 1885, p. 621. Ber. chem. Ges., *18*, 286. Zur N-Versorgung der Leguminosen ferner: J. LUTOSLAWSKI, Zentr. Agr. Chem., *28*, 688 (1899).

werden kann, und der Bodenaufguß durch Erhitzen seine Wirksamkeit verliert: somit eine Infektion durch Mikroben höchstwahrscheinlich ist. Bis zur Auffindung der Bacterien selbst war es nur ein relativ kleiner Schritt weiter. Die N-Aufnahme der Leguminosen aus der Luft sowie der Weg dieser Aufnahme war durch HELLRIEGEL klar gezeigt worden. Nach HELLRIEGEL, dessen Ergebnisse alsbald durch LAWES und GILBERT (1) bestätigt wurden, ist das Wachstum und der Stickstoffgewinn der Gramineen streng abhängig vom Nitratgehalte des Bodens (2). Bodenaufgußdarreichung vermag dieses Verhältnis in keiner Weise zu ändern. Die Leguminosen sind im natürlichen Boden von einer steigenden Nitratdarreichung in ihrem Gedeihen völlig unabhängig. In sterilisiertem Boden aber stellt sich auf Nitratdüngung hin ein ähnliches Verhältnis ein wie beim Getreide. Fügt man Bodenaufguß hinzu, so wird jenes Verhältnis wiederhergestellt, welches bei der Kultur auf normalen Böden herrscht. Die von HELLRIEGEL erschlossene N-Aufnahme der Leguminosen aus der Luft wurde bald darauf durch exakte analytische Untersuchungen ergänzt. SCHLOESING und LAURENT (3) erzogen Leguminosen in sterilisiertem Sande in sterilen Glaszylindern, welche mit einer genau gemessenen Menge Sauerstoff (20—25%), CO_2 (6—9%) und Stickstoff (65—70%) gefüllt wurden, und begossen dieselben in der einen Versuchsreihe mit sterilem Wasser allein, in einer anderen mit sterilem Wasser, in welchem Wurzelknöllchen verrieben waren. Nach 3 Monaten wurden die Zylinder evacuiert und der Luftstickstoff bestimmt. Die beiden Forscher fanden nur in der zweiten Versuchsreihe ein Minus an Luft-N nach Ablauf des Versuches, und zwar in zwei Fällen mit Erbsenkulturen folgende Werte:

Zu Beginn des Versuches eingeführt	2681,2 ccm	2483,3 ccm N
Nach Beendigung des Versuches wiedergefunden	2652,1 „	2457,4 „ „
Somit ein Verlust von	29,1 „	25,9 „ „
oder	36,5 mg	32,5 mg

Die Pflanzen hatten alle Knöllchen gebildet. Die mit sterilem, reinem Wasser begossenen Exemplare der ersten Reihe hingegen hatten keine Knöllchen und als N-Gewinn ergaben sich nur 0,6 mg. Diese Differenzen ließen sich im weiteren ausschließlich an Leguminosen, nicht aber bei anderen Phanerogamen feststellen, und ein N-Gewinn der letzteren auf Kosten des atmosphärischen Stickstoffgases war nie zu konstatieren. Bei dem obigen Versuche an Erbsen ergab sich schließlich folgende N-Bilanz:

	I	II	III (nicht infiziert)
N in Boden und Saatgut . . .	32,6 mg	32,5 mg	32,5 mg
N in der Erde	73,2	66,6	33,1
N-Gewinn der Pflanzen	40,6	34,1	0,6

---

1) LAWES u. GILBERT, Proc. Roy. Soc., *47*, 85 (1890). PROVE, Ztsch. landw. Ver. Bayern (1892), p. 85; (1893), p. 59 u. 101. — 2) Vgl. die Photographien bei PAUL WAGNER, Düngungsversuche mit Chilisalpeter. Darmstadt. — 3) TH. SCHLOESING u. E. LAURENT, Compt. rend., *111*, 750 (1890); *113*, 776 (1891); *115*, 881, 1017 (1892). Ann. Inst. Pasteur, *6*, p. 65; ebenda, p. 824.

Als diese grundlegenden Tatsachen bekannt geworden waren, konzentrierte sich das Interesse auf die bereits durch MALPIGHI (1) abgebildeten, in der älteren Literatur bald als Gallenbildungen, pathologische Erscheinungen, bald als Speicherorgane bezeichneten Wurzelknöllchen der Leguminosen (2). Für die erste Ansicht schien die Gegenwart pilzlicher Organismen darin zu sprechen (GASPARRINI und später WORONIN waren wohl die ersten, welche die in den zentralen Parenchymzellen in außerordentlich großer Masse vorfindlichen stäbchenförmigen Körperchen für Bacterien ansahen); für die andere Ansicht konnte man den durch die Analysen von TROSCHKE (3) festgestellten hohen Gehalt an Fett und Eiweiß verwerten.

TROSCHKE fand für die Lupinenwurzelknöllchen 86,95% Wassergehalt, für die Wurzeln 76,81%. Seine Analyse ergab:

	In 100 Teilen Trockensubstanz: Knöllchen	Wurzeln
Reinasche	7,51	4,07
Rohfett	5,33	1,31
Rohfaser	9,43	52,95
Gesamtstickstoff	7,25	1,13
Rohprotein	45,31	7,16
Eiweiß	31,59	5,02
N-freie Extraktstoffe	32,42	34,61

in 100 Teilen Reinasche:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	Mn_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
Knöllchen	16,90	25,87	10,03	10,82	1,82	0,69	16,19	11,74	3,11	3,28
Wurzeln	12,80	24,11	11,23	11,61	0,34	0,68	8,84	24,27	4,45	3,38

SANI (4) fand bei den Wurzelknöllchen von Faba einen Wassergehalt von 83,12%, Gesamtstickstoff 0,965%. In den Blättern war nur 0,8% Gesamt-N enthalten. Bei der Hydrolyse der Wurzelknöllchen wurde Asparaginsäure, Glykokoll und Phenylalanin nachgewiesen. Erwähnung verdient der Nachweis von Harnstoff und Urease als normale Bestandteile von Wurzelknöllchen (5)

Die Annahme, daß es sich bei den Knöllchen um eine Symbiose mit eingedrungenen Organismen handelt, finde ich zuerst von SCHINDLER (6) ausgesprochen; LUNDSTRÖM (7) hat sodann die Wurzelknöllchen als

1) MALPIGHI, Opera omnia, Londini 1686, Tome I. De seminum vegetatione, p. 4, 7. Degallis, p. 33; Abbildungen (Faba) Tab. II, IV. Nach G. E. MATTEI, Malpighia, *19*, 217 (1905) hatte bereits 1586 DALÉCHAMP die Wurzelknöllchen studiert und 1674 BOCCONE dieselben als besondere Eigenschaft der Leguminosen entdeckt. — 2) Vgl. CANDOLLE, Prodromus, II, 312 (1825); TREVIRANUS, Bot. Ztg. (1853), p. 393; CLOS, Ann. Sci. Nat. (3), *12*, 18 (1849); *18*, 354 (1852); GASPARRINI, Osservazioni sulla strutt. dei tuberc. di alc. piante Legum.; LACHMANN, Ztsch. Lehranst. Poppelsdorf (1856), p. 37. WORONIN, Mém. Ac. Sci. Pétersb., *10*, Nr. 6 (1866). Ann. Sci. Nat. (5), *7*, 84; ERIKSSON, Stud. öfver Legum. rotknölar Lund 1874; CORNU, Compt. rend., *81*, 955 (1875); Justs Jahresber. (1878), I, 162. TH. DYER, Ebenda (1876), II, 1273. WARMING (f. Elaeagnus), Ebenda (1876), I, 439. L. KNY, Sitz.ber. Bot. Ver. Brandenburg (1878), p. 55. Bot. Ztg. (1879), p. 537. A. B. FRANK, Ebenda, p. 377. PRILLIEUX, Bull. Soc. Bot. (2), *1*, 98 (1879). — 3) TROSCHKE, Justs Jahresber. (1884), I, 61. Auch BRÉAL, Compt. rend., *107*, 397 (1888). Auch DE VRIES, Landw. Jahrb. (1877), p. 233 sah die Knöllchen als normale Bildungen an. — 4) G. SANI, Atti Acc. Linc. (5), *19*, II, 207 (1910). — 5) BENJAMIN, Proc. Roy. Soc. N.S.-Wales, *49*, 78 (1915). — 6) FR. SCHINDLER, Botan. Zentr., *18*, 84 (1884). — 7) A. N. LUNDSTRÖM, Ebenda, *28*, 283 (1886); *32*, 159, 185 (1888). M. WARD, Phil. Trans. Roy. Soc., *178*, 173 (1886).

„Mycodomatien" bezeichnet. Der letztgenannte Forscher verteidigte auch die Ansicht, daß die von WORONIN als Bacterien erkannten Inhaltskörperchen pilzlicher Natur seien, gegen die von BRUNCHORST und TSCHIRCH geäußerte Meinung (1), daß die „Bacteroiden", wie BRUNCHORST jene Inhaltskörperchen nannte, normale Gebilde des Zellinhaltes darstellen.

Wurzelknöllchen und ähnliche Gebilde wurden im Laufe der Zeit außerhalb der Ordnung der Leguminosen, wo sie allgemein verbreitet (2) als Gruppenmerkmal vorkommen, noch vielfach gefunden. Doch bleibt es größtenteils festzustellen, inwieweit diese Vorkommnisse mit den Leguminosenknöllchen vergleichbar sind. Die schon erwähnten Wurzelanschwellungen von Alnus (3), von Myrica (4) und bei den Elaeagnaceen (5) differieren von den Leguminosenknöllchen durch den Erreger, den man derzeit zu den Actinomyceten rechnet. Die Stellung der bei den Coniferen (Podocarpus, Cryptomeria) (6) gefundenen Gebilde ist ganz unsicher; der Symbiont gehört vielleicht zu den höheren Pilzen. Die Wurzelanschwellungen der Cycadeen werden nach der Meinung von SPRATT (7) durch Bac. radicicola erzeugt, außerdem ist in ihnen Azotobacter und Anabaena vorhanden. Für die Knöllchen der Wurzeln von Datisca cannabina wird von MONTEMARTINI (8) mit Bestimmtheit angegeben, daß es sich wie bei den Leguminosen um Bacterienknöllchen handle. In den „Wurzelknöllchen" der Rhinanthaceen werden die Körnchen von JÜLG (9) nicht für Bacterien gehalten. Die „Rhizothamnien" von Casuarina equisetifolia sind nach MIEHE (10) von einem symbiontischen Actinomyceten bewohnt. Bei den Wurzelknöllchen von Ceanothus, die den Erlenknöllchen ähnlich sind (11), handelt es sich nach BOTTOMLEY um Bact. radicicola als Erreger. Über die Fälle von Isopyrum biternatum (12) und Tribulus (13) ist nichts sicheres bekannt. Inwiefern in allen diesen Fällen N-Fixierung eine Rolle spielt, ist größtenteils unklar.

BEIJERINCK (14) hat 1888 endgültig gezeigt, daß BRUNCHORSTS „Bacteroiden" tatsächlich Bacterien sind, welche wohl ungewöhnliche Gestaltungsverhältnisse zeigen, sich jedoch aus Knöllchen auf Gelatinenährboden überimpfen lassen, und daselbst fortwachsen. Der Bacillus radicicola, wie BEIJERINCK diese Mikrobe zu benennen vorschlug, ließ sich aus allen Leguminosen in sehr ähnlichen Formen isolieren, von denen

---

1) J. BRUNCHORST, Ber. bot. Ges., *3*, 241 (1883). Unt. bot. Inst. Tübingen, *2*, 151 (1886). Bot. Zentr., *24*, 222 (1885). A. TSCHIRCH, Ber. bot. Ges., *5*, 58 (1887). Auch MATTIROLO u. BUSCALIONI, Malpighia, *1*, 536 u. 464 (1887). Für Alnus u. Elaeagnus: FRANK, Ber. bot. Ges., *5*, 50 (1887). Der von FRANK, Ebenda, *10*, 170 (1892) behauptete „Dimorphismus" der Wurzelknöllchen existiert nicht, wie MÖLLER, Ebenda, p. 568 gezeigt hat, sondern betrifft nur Altersdifferenzen. — 2) Auch Scorpiurus keine Ausnahme: NICOLAS, Bull. soc. hist. nat. Afrique du Nord, *6*, 136 (1915). — 3) WORONIN, Mém. Ac. Sci. Pétersb., *10*, Nr. 6 (1866). Ann. Sci. Nat. (5), *7*, 84. BORNEBUSCH, Tidskr. f. Skovaes., *26*, 28 (1914). — 4) J. BRUNCHORST, Bot. Zentr., *33*, 209 (1888). MÖLLER, Ber. bot. Ges., *8*, 217 (1890). — 5) WARMING, Justs Jahresber. (1876), I, 439. — 6) VAN TIEGHEM u. DOULIOT, Bull. Soc. Bot., *35*, 105 (1888). Podocarpusknöllchen: SCHÜRHOFF, Ber. bot. Ges., *37*, 373 (1919). — 7) E. R. SPRATT, Ann. of. Bot., *26*, 801 (1912). — 8) L. MONTEMARTINI, Acc. Linc. Roma (5), *15*, I, 144 (1906). A. TROTTER, Bot. Zentr., *90*, 196 (1902). — 9) E. JÜLG, Ber. dtsch. bot. Ges., *34*, 427 (1916). Früher L. KOCH, Ebenda, *5*, 350 (1887); SPERLICH, Beiheft. bot. Zentr., *11*, 437 (1902); BEIJERINCK, Bot. Ztg. 1888. — 10) MIEHE, Flora, *111—112*, 431 (1918). Z. KAMERLING, Nat. Tijdschr. Ned. Ind, *71*, 73 (1912). — 11) SARAUW, Beiheft. bot. Zentr., *6*, 24 (1896); ebenda zit. ATKINSON. BOTTOMLEY, Ann. of Bot., *29*, 605 (1915). — 12) N. T. MAC DOUGAL, Minnesota Bot. Stud. (1894), p. 39. — 13) B. L. ISSATSCHENKO, Bull. Jard. Bot. Petersb., *13*, 23 (1913). — 14) M. BEIJERINCK, Bot. Ztg. (1888), p. 725.

schon Beijerinck zwei Gruppen unterschied. Dieselbe Mikrobe ist nach Beijerinck freilebend in Wasser und Boden weit verbreitet. Als Nährsubstrat benutzte man zunächst Erbsen- oder Fabastengel-decoct-Gelatine. Da es daraufhin Prazmowski (1) gelang, diese Resultate zu bestätigen, und durch Impfen aus Kulturen, die viele Generationen hindurch auf künstlichem Substrate gezogen waren, erfolgreich Leguminosen in sterilem Boden zu infizieren, d. h. dieselben zur Knöllchenbildung zu bringen, darf man in diesen Arbeiten den Abschluß der von Hellriegel angebahnten Auffassungen über den Weg der N-Aufnahme der Leguminosen erblicken.

Die Erklärung der gegabelten und buchtigen Bacteroidenformen im Inhalte der Knöllchenzellen hat manche Schwierigkeit verursacht. Daß die Bacteroiden, wie einst Frank (2) annahm, ein Gemisch von Bacterien- und Phanerogamenplasmen seien („Mycoplasma"), sowie, daß die ganze Pflanze von dem infizierenden „Rhizobium leguminosarum" Franks durchwuchert ist, darf eine völlig widerlegte Theorie genannt werden.

In einer weiteren Mitteilung hat Prazmowski (3) den Infektionsgang aus den Radicicola-Kulturen auf Wurzeln in N-freiem, sterilem Sande verfolgt und die Knöllchenbildung beobachtet. Beijerinck (4) wies nach, daß die Bacterien nur in den Knöllchen der infizierten Pflanze vorkommen, ein Befund, der durch Zinsser (5) bestätigt worden ist. Schließlich haben die schönen Versuche von Nobbe und seinen Mitarbeitern (6) bewiesen, wie streng lokalisiert die Knöllchenbildung an dem Wurzelsystem steriler Pflanzen im Sande in der Nähe der Impfstelle erfolgt. Andererseits ist im Sinne der Feststellungen von Hellriegel die N-Fixierung strikte an die Knöllchenbildung gebunden, so daß von einer Unabhängigkeit dieser Befähigung von der Gegenwart des Bac. radicicola in den Knöllchen nicht gesprochen werden kann. Daß die N-Assimilation wirklich nur in den Knöllchen stattfindet, und nicht auch in den Blättern (7), geht mit großer Bestimmtheit aus den Versuchen von Nobbe und Hiltner (8) hervor, welche zeigten, daß bei kräftig N-fixierenden Knöllchen tragenden Pflanzen die Tätigkeit sofort erlischt, sobald man sie unter Wasser taucht, indem das Wasser die Knöllchenbildung schwer beeinträchtigt. Luftmangel spielt anscheinend bei diesem Effekte keine Rolle.

In der Folge waren die Fragen zu beantworten, wie der Bac. radicicola in künstlichen Kulturen ernährt wird, ob er für sich allein N fixieren kann, oder ob die phanerogame Wirtspflanze hierbei irgendeine aktive Bedeutung hat. Ferner, wie in der Natur die Infektion der Keimlinge

---

1) A. Prazmowski, Ber. Akad. Krakau, Juni (1889); Botan. Zentr., *39*, 356 (1889). In einer früheren Mitteilung (ebenda, *36*, 215 [1888]) äußerte er sich noch nicht so bestimmt. — 2) A. B. Frank, Ber. bot. Ges., *7*, 332 (1889); *6*, Gen.Vers.-Heft, p. 87 (1888). Landw. Jahrb., *19*, 523 (1890). — 3) A. Prazmowski, Landw. Vers.stat., *37*, 161 (1890); *38*, 1 (1890). Auch J. Levy, Diss. Halle (1889); E. Bréal, Compt. rend., *109*, 670 (1889). — 4) Beijerinck, Bot. Ztg. (1890), p. 837; Naudin, Compt. rend., *123*, 666 (1896) gab Vorhandensein der Bacterien in den Samen an. — 5) O. Zinsser, Jahrb. wiss. Bot., *30*, 423 (1897). Nicolai, Justs Jahresber. (1900), I, 49. — 6) Nobbe, Schmid, Hiltner u. Hotter, Landw. Vers.stat., *41*, 137 (1892). Parallelismus von N-Fixierung und Knöllchenbildung auch bei Déhérain u. Demoussy, Compt. rend., *130*, 20, 465 (1900). — 7) Stoklasa, Landw. Jahrb., *24*, 827 (1896). Auch A. B. Frank, l. c. — 8) Nobbe u. Hiltner, Landw. Vers.stat., *52*, 455 (1899). J. Golding, Zentr. Bakt., II, *11*, 1 (1903); Whiting, Bull. Illinois Agr. Exp. Sta., 1915, p. 471. Versuche zur Demonstration der N-Aufnahme durch die Wurzeln bei den Leguminosen: L. Albert, Internat. agr.techn. Rdsch., *7*, 842 (1916).

erfolgt, ob alle Leguminosen dieselbe Bacterienart als Symbionten besitzen, endlich, ob es praktischen Erfolg haben kann, künstliche Impfung des Bodens und der Samen mit B. radicicola zu vollziehen, und so die Fähigkeit der N-Fixierung bei Leguminosenkulturen zu steigern.

In den künstlichen Kulturen stellt Bac. radicicola normal geformte Kurzstäbchen (1) dar. Jedoch konnten Stutzer sowie Hiltner (2) die kurzen stumpfen Auszweigungen, welche die Bacterien der Knöllchenzellen so häufig zeigen, auch in Kulturen hervorrufen, wenn dem Substrate saures Kaliumphosphat zugefügt wurde. Auch Glycerin erzeugt stark verzweigte Formen nach Buchanan (3), ebenso Coffein und Cumarin nach Fred (4). Daß man diese charakteristischen Bacteroidenformen schlechthin als Involutionsformen aufzufassen hätte, erscheint nicht recht wahrscheinlich (5), wenn man auch nicht weiß, wie viele lebensunfähige und tote Bacterien in den Zellen den wachstumsfähigen beigemischt sind. Nach Smith (6) kann man aus dem Grade der Schleimbildung Rückschlüsse auf die Aktivität ziehen, indem kräftige Vegetation stets mit reichlicher Schleimbildung einhergeht. Nach Fred dürfte es sich um einen Eiweißschleim handeln. Georgevitch (7) gibt an, daß Knöllchen von Vicia sativa neben langen verzweigten Bacterienformen auch kurze unverzweigte, bewegliche enthalten. Petri (8) isolierte einen „Kapselbacillus" von Wurzelknöllchen des Klees. Bezüglich des Clostridium Pasteurianum, das Rodella (9) ätiologisch mit der Knöllchenbildung in Zusammenhang bringt, kann der Verdacht nicht abgewiesen werden, daß es von der Oberfläche der Knöllchen in die Kulturen hereingeraten ist. Die von Vuillemin (10) angeführten Befunde von Pythium und Pleolpidium an alten Knöllchen beziehen sich wohl nur auf Saprophyten. Ebenso skeptisch muß man sich der Theorie von Bottomley (11) über die Bedeutung einer Symbiose von Radicicola mit Azotobacter gegenüberstellen.

Nach Beijerinck (12) braucht die Knöllchenmikrobe eine getrennte C- und N-Quelle. Am besten wirkt einerseits Glucose oder Saccharose, andererseits Asparagin, Ammoniumsulfat, Kali- oder Natronsalpeter. Laurent (13) konnte die Bacterien auf N-freier Nährlösung von 0,1 % KH_2PO_4, 0,01 $MgSO_4$, 5—10 % Rohrzucker, Maltose, Lactose, Dextrin, Mannit oder Glycerin fortbringen. Sonst kultiviert man sie auch auf Maltoseagar, oder nach dem Vorschlage von P. Schneider (14) auf ge-

---

1) Begeißelung: Barthel, Ztsch. Gär.phys., *6*, 13 (1917). — 2) A. Stutzer, Mitteil. landw. Inst. Breslau, Heft 3 (1900). Zentr. Bakt., II, *7*, 897 (1901). L. Hiltner, Ebenda, *6*, 273 (1900). P. Neumann, Landw. Vers.stat. (1901), p. 187. — 3) R. E. Buchanan, Zentr. Bakt., II, *23*, 59 (1909). — 4) E. B. Fred, Va. Ex. Sta. Ann. Rep. 1911/12, p. 145. — 5) Bakteroiden: H. Fischer, Zentr. Bakt., *30*, 384 (1911). H. Zipfel, Ebenda, *32*, 97 (1911); G. de Rossi, Ebenda, *18*, 289 (1907); Ann. d'Igien. Sper., *16*, 493 (1906). E. Laurent, Ann. Inst. Pasteur, *5*, 105 (1891). Rec. Inst. Bot. Brux., *3*, 87 u. 83 erklärte die Bacteroiden für einen der Pasteuria ramosa verwandten Organismus und schied sie von den echten Bacterien. — 6) R. Greig Smith, Journ. Soc. Chem. Ind., *26*, 304 (1907). Linn. Soc. N.S.-Wales (1906), p. IV, Okt. 31. Zentr. Bakt., II, *30*, 552 (1911). — 7) P. Georgevitch, Soc. Biol., *69*, 276 (1910). — 8) Petri, Kochs Jahresber., *14*, 55 (1903). — 9) A. Rodella, Zentr. Bakt., II, *18*, 455 (1907). — 10) P. Vuillemin, Bull. Soc. Sci. Nancy (3), *10*, 30 (1909). — 11) W. Bottomley, Zentr. Bakt., II, *25*, 270 (1909). — 12) Beijerinck, Kochs Jahresber. (1892), p. 205; Bot. Zentr., *52*, 137 (1892). — 13) E. Laurent, Compt. rend., *111*, 754 (1890). Ann. Inst. Pasteur, *4*, 722 (1890); *5*, 105 (1891). — 14) P. Schneider, Landw. Jahrb., *35*, Erg.bd. IV, p. 63 (1906). Über Reinkultur noch: J. L. Sheldon, WestVirg. Agr. Ex. Sta. Bull., *105*, 319 (1906); N. Strampelli, Bull. Ministr. Agricolt., II, 4 (1905); *6*, 735 u. 740. E. B. Fred u. W. B. Ellet, Plant World, *12*, 131 (1909); G. de Rossi, Ann. di Botan., *7*, 653 (1909); Vuillemin, Zentr. Bakt., *15*, 737 (1906); H. Zipfel, Ebenda,

pulverter Kreide mit 20% Glucose und den nötigen Nährsalzen, wo sie besser wachsen sollen als in Gelatinekulturen. Überzeugende Belege für eine intensive Bindung von Luft-N konnten aber durch alle diese Bemühungen nicht erbracht werden. MAZÉ (1) meinte, daß bessere Erfolge zu erreichen wären, wenn man den Bacterienkulturen nicht nur Kohlenhydrate darreichte, sondern auch ähnliche Stickstoffquellen, wie sie in den Knöllchen geboten sind. MAZÉS Nährlösung bestand in Bohnenaufguß mit 2% Saccharose, 1% NaCl, Spuren von $NaHCO_3$ und Agar. Zwei Kolben mit je 50 ccm Nährlösung, mit Radicicola geimpft, lieferten nach 16tägiger Kultur 45,8 mg Gesamt-N gegen 22,4 mg zu Beginn des Versuches, hatten demnach den N-Gehalt mehr als verdoppelt. Auch FRED sah bei neun Stämmen von Knöllchenmikroben eine der Azotobacter-Wirkung gleichkommende N-Fixierung. Ob die Bacteroidenbildung mit der Stickstoffbindung zusammenhängt, wie manchmal behauptet wurde, ist nicht sicher erwiesen. Vielleicht ist hier noch ein ungeklärter Punkt verborgen, der mit dem Mechanismus der Bacterientätigkeit in den Knöllchen verbunden ist. Eine bessere Eignung der im Boden in der Nähe der Knöllchen vorkommenden Bacterien (2) ist unwahrscheinlich. Argon wird von den Knöllchen nicht aufgenommen (3).

Daß die Knöllchenbildung bei Darreichung von Natronsalpeter verringert wird, ist durch MALPEAUX, LAURENT und NOBBE festgestellt worden (4). LAURENT konstatierte, daß es sich um vorübergehende Wirkungen handelt, da die Wurzeln, in anderen Boden übertragen, wieder normale Knöllchen erzeugen; auch die Bacterienkulturen werden durch die Darreichung von Natriumnitrat oder Ammoniumsulfat nicht geschädigt. NOBBE verdanken wir den Nachweis, daß bei der künstlichen Impfung mit Radicicola-Kulturen der Erfolg in salpetergedüngtem Substrate herabgesetzt wird. Als Vicia villosa in Boden mit nur 0,05% N angesäet war, entnahm sie mindestens 86% ihres N-Bedarfs den Knöllchen; wenn 0,5 und 1,0 g Salpeter-N dargereicht wurde, so ging dieser Anteil auf 54 resp. 44% hinab. Nach MARCHAL (5) kann man auch in Wasserkulturen durch Zufügen geringer Mengen von Nitraten oder Ammoniumsalzen die Knöllchenbildung hemmen. So scheint auch hier wie bei Clostridium Pasteurianum die N-Fixierung nur unterhalb einer bestimmten sehr kleinen Konzentration von Stickstoffverbindungen in der Nahrung ausgiebig stattzufinden. Unaufgeklärt ist es, warum auch die Knöllchenbildung unter diesen Verhältnissen unterbleibt, trotzdem die Bacterien nach LAURENT nicht im Wachstum durch das Aufhören der energischen N-Fixierung behindert werden. Bemerkt sei noch, daß für die Knöllchenmikroben die Reduktion von Nitraten zu Nitrit und Ammoniak behauptet worden ist (6).

Nach GOLDING (7) soll Darreichung von Zucker, aber nicht in allzugroßen Quantitäten, das Gedeihen der knöllchentragenden Pflanzen sehr vorteilhaft beeinflussen. Vielleicht liegen die Verhältnisse ähnlich

---

32, 97 (1911). K. F. KELLERMAN, Ebenda, *34*, 42 (1912); A. SCHNEIDER, Bot. Gaz., *40*, 296 (1905).

1) MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *11*, 44 (1897). — 2) P. NEUMANN, Landw. Vers.stat., *56*, 203 (1902). — 3) G. TOLOMEI, Giorn. di Farm., *46*, 145 (1897). — 4) L. MALPEAUX, Ann. Agron., *27*, 65 (1901); E. LAURENT, Compt. rend., *133*, 1241 (1901). NOBBE u. L. RICHTER, Landw. Vers.stat., *46*, 441 (1902); *59*, 167 (1904). — 5) E. MARCHAL, Compt. rend., *133*, 1032 (1901). — 6) U. ALVISI u. M. ORABONA, Gazz. Chim. Ital., *42*, I, 565 (1912). R. KLEIN, Beiheft. bot. Zentr., *30*, I, 141 (1913). — 7) J. GOLDING, Zentr. Bakt., *9*, 251 (1902).

wie bei den freilebenden Stickstoff fixierenden Bodenbacterien. Nach den Untersuchungen von WOHLTMANN (1) ist ferner anzunehmen, daß reichliche Zufuhr von Kali, Phosphorsäure und Kalk die Tätigkeit der Leguminosen sehr namhaft unterstützt und reichliche Knöllchenbildung herbeiführt. Auch die von LAURENT angeführten Versuche sind geeignet, diese Meinung zu stützen. Mit dem Einflusse der Kalkdarreichung auf den Ertrag und die Knöllchenbildung der Leguminosen hatten sich schon früher die Untersuchungen von HEINRICH, RODEJCZER, TACKE und B. SCHULZE beschäftigt (2). Reizwirkungen durch Metalle auf die Knöllchenbildung beobachtete PEROTTI (3). Von physikalischen Faktoren für die Bildung und Funktion der Wurzelknöllchen kommt nach den Untersuchungen von GAIN (4) hinreichende Durchfeuchtung des Bodens sowie sehr wesentlich gute Durchlüftung in Betracht (5). Die Knöllchenbacterie ist, wie MAZÉ (6) betont, ein ausgeprägt aerober Organismus, und auch an den Knöllchen findet man Einrichtungen, die sich als Durchlüftungserleichterung auffassen lassen (7). Langsames Eintrocknen scheinen die Knöllchenbacterien schlecht zu vertragen. Rasches Trocknen wirkt vermutlich nicht so schädlich (8).

Ursprünglich überwogen die Fälle, in denen Infektion von Leguminosen mit wirksamen Knöllchenorganismen durch Impfung mit jeder beliebigen Bodenart erzielt werden konnte, so sehr, daß FRANK für die Wurzelknöllchenbildung nur einen einzigen ubiquitär vorhandenen Bodenspaltpilz als Ursache annahm. Doch hatte NOBBE (9) gefunden, daß Gleditschia die Knöllchenbildung nicht bei jedem Impfversuche zeigt, und BEIJERINCK hatte auf Grund mißlungener Infektionsversuche bei Faba mit Bacterien aus Ornithopusknöllchen schon damals angenommen, daß nicht alle Leguminosenbacterien miteinander identisch sein können. Sodann zeigten NOBBE und HILTNER (10) durch genaue Versuche unter Impfung steriler Pflanzen mit Bacterienreinkulturen, daß tatsächlich im allgemeinen nur nahe miteinander verwandte Leguminosenformen wechselseitig mit ihren Knöllchenbacterien infiziert werden können, so daß es z. B. nicht gelingt, Robiniawurzeln mit Pisumbacterien zur Knöllchenbildung zu bringen. KIRCHNER (11) wies

1) WOHLTMANN, Journ. f. Landw., *50*, Heft 4 (1902). H. WILFARTH u. G. WIMMER, Landw. Vers.stat., *67*, 27 (1907). Bei der Lupine sollen jedoch nach SEELHORST, GEILMANN u. THIELE, Dtsch. landw. Presse 1915, Nr. 1, die Bacterien in hohem Maße durch Kalk geschädigt werden. — 2) HEINRICH, Dtsch. landw. Presse (1896), p. 809. BILLWILLER, Diss. Bern (1895). C. v. RODEJCZER, Bot. Zentr., *66*, 42 (1896). SALFELD, Die Bodenimpfung (1896) bezügl. K u. P_2O_5. B. TACKE, Chem. Zentr. (1896), II, 252. B. SCHULZE, Landw. Presse, *29*, 822 (1902). DÉHÉRAIN u. DEMOUSSY, Compt. rend., *133*, 1174 (1901); HOPKINS, Journ. Amer. Chem. Soc., *24*, 1155 (1903). MAKRINOW, Zentr. Bakt., II, *49*, 474 (1919). — 3) R. PEROTTI, Ann. di Botan., *3*, 513 (1905). Günstige Wirkung von Mangan: OLARU, Compt. rend., *160*, 280 (1915). ROCASOLANO, Intern. agr.techn. Rdsch., *7*, 739 (1916). — 4) E. GAIN, Compt. rend., *116*, 1394 (1893). S. HERKE, Internat. agr.techn. Rdsch., *7*, 127. Bedeutung der Knöllchen als Wasserspeicher: VAN DER WOLK, Publ. sur la Physiol. Végét., II, Nimègue 1914, p. 79. — 5) W. MEYER, Kochs Jahresber. (1897), p. 215. — 6) MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *12*, 1 u. 128 (1898). FERRY, Rev. mycol. 1902, p. 88. — 7) Vgl. FRANK, Ber. bot. Ges., *10*, 271 (1892). — 8) K. F. KELLERMAN u. BECKWITH, Science, N. S. XXIII, 47 (1906); J. SIMON, Jahresber. angew. Bot., *5*, 132 (1908). O. BALL, Zentr. Bakt., II, *23*, 47 (1909). B. M. DUGGAR u. M. J. PRUCHA, Ebenda, *34*, 67 (1912). — 9) NOBBE, Verh. Nat.forsch. Vers. Bremen (1890), II, 551. — 10) NOBBE, HILTNER, SCHMID u. HOTTER, Landw. Vers.stat., *39*, 327 (1891). Auch die Überlegenheit der Impferde über Reinkulturen bei Luzerne (HEINRICH, Internat. agr.techn. Rdsch., *7*, 839 [1916]) ist durch Rassendifferenzen zu erklären. — 11) O. KIRCHNER, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz., *7*, 213 (1895). BRÜMMER, Biedermanns Zentr., *23*, 473 (1894). Impfversuche bei Soja: VORHEES, Journ. Amer. Soc. Agron., *7*, 139 (1915).

nach, daß Glycine hispida in manchen europäischen Gartenböden knöllchenfrei bleibt, aber durch Impfung mit japanischer Erde zur Knöllchenbildung gelangt. Ähnlich scheinen auch die Knöllchenbacterien von Hedysarum coronarium in den italienischen Böden nicht überall verbreitet zu sein (1). Trotzdem NOBBE und seine Mitarbeiter (2) später fanden, daß die arteigenen Knöllchenbacterien in der Regel die wirksamsten sind, und Bacterien einer Art nur bei Pflanzen derselben und nächststehenden Tribus der Leguminosen Knöllchen erzeugen (Bacterien von Pisum nur bei Vicieen und Phaseoleen, nicht aber bei Hedysareen, Genisteen, Trifolieen und Galegeen), so meinte NOBBE nur Rassenunterschiede, nicht Artunterschiede der Knöllchenmikroben annehmen zu sollen, zumal es später gelang, die anfänglich bei Kreuzungsinfektionen (Bohne, Erbse) vorhandene geringere Virulenz durch Wiederholung der Impfung zu steigern, und so eine gewisse Anpassungsfähigkeit der Bacterien wahrscheinlich zu machen (3). Demgegenüber fallen die entgegengesetzt lautenden Angaben von GONNERMANN (4) über die Inkonstanz der infizierenden Bacterienarten wenig ins Gewicht, da wahrscheinlich in diesen Versuchen schwerwiegende methodische Fehler unterlaufen sind. Auch die Ansichten von A. SCHNEIDER (5) über eine große Artenzahl der Knöllchenbacterien konnten nicht bestätigt werden. HILTNER (6) hat im Anschlusse an Untersuchungen über die eigentümlichen Veränderungen, die die Wurzelhaare steriler Keimpflanzen durch Behandlung mit CHAMBERLAND-Filtraten aus Radicicolakulturen ihrer eigenen und fremden Bacterien erleiden, neuerdings die Ansicht gestützt, daß Rassenunterschiede bestehen, jedoch durch Anpassung verwischt werden können. So wie BEIJERINCK und MAZÉ schon früher, auf weniger weitgehende Erfahrungen fußend, zwei Gruppen von Knöllchenmikroben hatten unterscheiden wollen, so unterschieden HILTNER und STÖRMER (7) mindestens zwei Gruppen mit dem Range von Arten: 1. Bact. radicicola auf Pisum, Vicia, Lathyrus, Phaseolus, Trifolium, Medicago, Anthyllis, Onobrychis, Robinia; wächst sehr gut auf gewissen Gelatinenährböden, bildet leicht Verbreiterungen und Aussprossungen. 2. Bact. Beijerinckii auf Lupinus, Ornithopus, Glycine, vielleicht auch Genista und Sarothamnus; bleibt stets stäbchenförmig, läßt Aussprossungen nur an einem Pol entstehen, wächst auf Nährgelatine nur wenig. Doch auch diese Differenzierung scheint noch einer Erweiterung zu bedürfen. MAASSEN und BEHN (8) schieden bereits 4 Gruppen von Knöllchenmikroben, die durch die Typen der Pisum-, Trifolium-, Medicago- und Lupinusbacterien vertreten werden. Ähnlich trennten auf Grund serologischer Untersuchungsmethodik KLIMMER und KRÜGER (9) vier weitverbreitete Knöllchenbacterienarten, die eine von Lupine und Orni-

---

1) V. PEGLION, Staz. sper. agr., *38*, 769 (1905). G. SEVERINI, Rend. Acc. Linc. (5), *16*, II, 219 (1907). Ann. di Botan., *7*, 33 (1908). — 2) NOBBE, HILTNER u. SCHMID, Landw. Vers.stat., *45*, 1 (1894); *47*, 257 (1896). — 3) NOBBE u. HILTNER, Zentr. Bakt., II, *6*, 449 (1900). F. NOBBE, L. RICHTER u. J. SIMON, Landw. Vers.stat., *68*, 229, 241 (1908). — 4) M. GONNERMANN, Landw. Jahrb., *23*, 649 (1894). — 5) A. SCHNEIDER, Ber. bot. Ges., *12*, 11 (1894). Bull. Torrey Bot. Club, *19*, Nr. 7 (1892). — 6) L. HILTNER, Arb. Biol. Abt. Kais. Ges.amt, *1*, 177 (1900). Arteinheit: B. HEINZE, Naturwiss., *5*, 339 (1915); Jahresber. Vereinig. angew. Bot., *10*, 75 (1912). — 7) HILTNER u. STÖRMER, Neue Untersuch. über die Wurzelknöllchen (1903). — 8) MAASSEN u. BEHN, Mitteil. Biol. Anst. Land- u. Forstwirtschaft, IV, 42 (1908). — 9) M. KLIMMER u. R. KRÜGER, Zentr. Bakt., II, *40*, 256 (1914). R. KRIEGER, Diss. Dresden 1914. GARMAN u. DIDLAKE, Kentucky Agr. Exp. Sta. Bull., 1914, p. 343. SIMON, Zentr. Bakt., *41*, 470 (1914) fand serobiologisch mindestens 5 Gruppen. Wirkungslosigkeit von Kreuzimpfung: EWART u. THOMSON, Proc. Roy. Soc. Victoria, *25*, 193 (1913).

thopus, die zweite von Melilotus, Medicago und Trigonella, die dritte von Lotus und Anthyllis, die vierte von Vicia und Pisum. Aber in diesen Gruppen sind die differenten Bacterien von Faba, Trifolium, Phaseolus, Glycine, Onobrychis nicht enthalten, und so dürfte die Formenzahl mit den vier genannten nicht erschöpft sein. Es wird noch zu prüfen sein, ob diese Formen nur Rassen, den biologischen Arten der Rostpilze vergleichbar, oder wirkliche Arten in morphologischem Sinne sind. Doch scheint die Ansicht, daß strenge Arteinheit für alle Leguminosenknöllchenbacterien anzunehmen sei, derzeit nicht mehr aufrecht zu halten zu sein (**1**).

Unter günstigen Bedingungen verbreitet sich Bac. radicicola im Boden, wie Versuche von KELLERMAN und FAWCETT (**2**) an sterilisierten günstigen Bodensubstraten zeigten, rasch weiter, so daß in 48 Stunden bei 25° etwa ein Weg von 1 Zoll zurückgelegt werden kann. Nach den Untersuchungen von PRAZMOWSKI besteht kein Zweifel, daß die erstinfizierten Stellen die Wurzelhaare sind. HILTNER (**3**) stellte fest, daß wahrscheinlich Stoffe, die von den Wurzelhaaren ausgeschieden werden (**4**), auf die Bacterien eine chemotaktische Wirkung ausüben; denn die Bacterien sammeln sich binnen wenigen Stunden in der Umgebung der Wurzelhaare an. Nun bilden sich offenbar durch die von den Bacterien produzierten Stoffe eigentümliche Veränderungen, hirtenstabförmige Einrollungen an den Haaren aus. Die hierbei wirksamen Substanzen konnte HILTNER mittels Filtration durch CHAMBERLAND-Kerzen von den Bacterien trennen. Vielleicht ist eines der wirksamen Agentien der Mikroben ein zellwandlösendes Enzym. MOLLIARD (**5**) fand bei der Applikation von bacterienfreien Filtraten aus den Radicicolakulturen auf Fabawurzeln Hyperplasien und Formveränderungen der Zellen. Es wurde gefunden, daß die Bacterien auch durch die Wurzelausscheidungen von Nichtleguminosen angelockt werden. Andererseits sind bei Leguminosen die nach der Infektion gebildeten Wurzelhaare gegen den Angriffsstoff der Bacterien immun. Wahrscheinlich hängt die Virulenz der Bacterien mit der Intensität der Angriffsstoffproduktion zusammen. NOBBE und HILTNER hatten auch schon untersucht (**6**), inwiefern die Impfstoffmenge die Knöllchenbildung quantitativ beeinflußt, ohne jedoch nennenswerte Einflüsse dieser Art finden zu können. Die Gesamtmasse der Knöllchen stand vielmehr in einem gewissen Verhältnis zur Masse der oberirdischen Pflanzenteile. Aber, wie HILTNER nachwies, auch der Virulenzgrad der Mikroben spielt mit hinein. Würde man eine Leguminose, die mit nicht maximal angepaßten, schwächer virulenten Bacterien geimpft ist, mit stärker virulenten Mikroben impfen, so würde der Erfolg der Knöllchenvermehrung in Erscheinung treten. Würde man hingegen eine mit ihren eigenen Bacterien infizierte Pflanze mit schwächer virulenten Mikroben reinfizieren, so würde keine Vermehrung der Knöllchenzahl eintreten. Die bereits infizierten Pflanzen reagieren also nicht auf eine schwächere oder gleich starke Infektion. Dies ist mit der Grund, weswegen die reichlichsten Knöllchen in den oberen Bodenschichten sich ausbilden, wo die Infektion zuerst erfolgt ist. Die Entstehung der Immunität brachte HILTNER mit jenen Stoffen in Zusammenhang, die in den Knöllchen die bacteroidenartige Gestaltsänderung der Mikroben

---

1) Arteinheit: H. BUHLERT, Zentr. Bakt., II, *9*, 148 u. 892 (1902). REMY, Verh. Nat. Ges. Karlsbad (1902), I, 204; B. HEINZE, Zentr. Bakt., *10*, 668 (1903); Landw. Jahrb., *39*, Erg.bd. 3 (1910). G. DE ROSSI, Ann. di Botan., *7*, 617 (1909). — **2**) K. F. KELLERMAN u. E. H. FAWCETT, Science, *25*, 806 (1907). — **3**) HILTNER, Arb. biol. Abt. Kais. Ges.amt, *1*, 177 (1900). — **4**) Über solche Stoffe vgl. F. CZAPEK, Jahrb. wiss. Bot., *29*, 321 (1896). — **5**) M. MOLLIARD, Compt. rend., *155*, 1531 (1912). — **6**) NOBBE u. HILTNER, Landw. Vers.stat., *55*, 141 (1901).

erzeugen, und er erinnerte daran, daß jene Leguminosen die zahlreichsten und größten Knöllchen erzeugen, welche die Gestalt der Bacterien am wenigsten verändern. HILTNER sieht überhaupt das Verhältnis der beiden Symbionten als einen Kampf an, bei welchem die Pflanze durch Zellenzyme das von den Bacterien produzierte Eiweiß resorbiert und bei dem die Größe der N-Assimilation auf dem Vermehrungs- und Wachstumseffekt der Bacterien beruht, welcher diesen im Kampfe gegen den Wirt als wirksame Schutzmaßregel dient (**1**). In dieser Richtung ist es von Interesse, daß bei Soja eine Art Gelbsucht auftreten kann, welche VAN DER WOLK (**2**) darauf zurückführt, daß die Pflanze von ihren eigenen Knöllchenbacterien überwältigt und schließlich getötet wird; die Schutzzellen funktionieren da nicht. Über den Infektionsmodus selbst wissen wir durch PRAZMOWSKI, HILTNER, PEIRCE, STEFAN (**3**) soviel, daß in den infizierten Haarzellen ein von Bacterien erfüllter, stark lichtbrechender Schleimstrang („Infektionsfaden" von FRANK) ausbildet, der in die Wurzelrinde hineinwächst, während gleichzeitig die knöllchenartige Anschwellung auftritt. Nach kürzerer oder längerer Dauer des Bestandes löst sich der Infektionsfaden in den Knöllchenzellen auf, wobei das Cytoplasma völlig verdrängt wird; der anfangs zwischen den Bacterien sichtbare Kern degeneriert, und die Bacterien nehmen die charakteristischen Bacteroidenformen an. Möglicherweise ist die starke N-fixierende Wirkung der in den Knöllchen lebenden Bacterien ebenfalls als Reaktion der Mikroben im Kampfe mit den Wirtszellen aufzufassen (**4**). Die gegen den Schluß der Vegetationsperiode hin erfolgende Entleerung der Knöllchen sehen NOBBE und HILTNER als „Befreiung der Bacterien" infolge der verminderten Abwehrkraft der Pflanze an.

Die ganze Biologie der Knöllchenbacteriensymbiose wird man kaum unabhängig von der Mycorrhizafrage lösen können. LEMMERMANN (**5**) hat die bemerkenswerte Anschauung ausgesprochen, daß die Leguminosen eine geringere Intensität des Transpirationsstromes haben dürften als z. B. Gramineen, so daß die daraus resultierende mangelhaftere Versorgung mit Bodenstickstoff durch die Knöllchensymbiose ausgeglichen werden könnte. Es wäre noch zu prüfen, ob die Knöllchensymbiose nicht auch die Versorgung mit einzelnen Mineralstoffen erleichtert. BEIJERINCK (**6**) glaubt, daß die N-Nahrung nur in sehr mittelbarer Beziehung zu den Knöllchenbacterien steht; er macht auf das Mißverhältnis der Knöllchenzahl zu der Größe der Pflanzen bei Leguminosenbäumen aufmerksam und vermutet, daß die N-Aufnahme nicht allein durch die Knöllchen erfolgt. Auch hält er die N-Bindung durch Bacterienkulturen für zu gering, als daß sie die N-Versorgung der Leguminosen erklären läßt. So lange nicht quantitative Untersuchungen ein klareres Bild geben, wird man kaum die einzelnen Faktoren richtig einschätzen können.

---

1) Über die Auffassung, daß die Bacterien zuerst Parasiten seien, bis sich die Pflanze durch Verdauung derselben in ein Gleichgewicht setzt, vgl. auch GEO. T. MOORE, U. S. Dept. Agric. Bull. Plant. Ind., Nr. 71. Washington (1905). — **2**) P. C. VAN DER WOLK, Cultura, *28*, Nr. 336 (1916). — **3**) HILTNER, l. c. PRAZMOWSKI, l. c. G. J. PEIRCE, Proc. Californ. Acad. Sci. (3), *2*, Nr. 10 (1902); J. STEFAN, Zentr. Bakt., II, *16*, 131 (1905). Über die abweichenden Vorgänge bei der Knöllchenbildung von Ornithopus vgl. B. NEMEC, Slavn. Spis Česk. Ak. Prof. Vrba 1915, I. — **4**) Vgl. auch H. SÜCHTING, Zentr. Bakt., *11*, 377 (1904). Wenig faßbar sind die Ausführungen von J. ZELLNER, Beiheft. botan. Zentr., *28*, 473 (1912) über „Symbiose als chemisches Problem". — **5**) O. LEMMERMANN, Verh. Nat. Ges. (1904), II, *1*, p. 145; Landw. Vers.stat., *67*, 207 (1907). — **6**) BEIJERINCK, Akad. Amsterdam, *26*, 1456 (1918).

Der Chemismus der Stickstoffsammlung in den Knöllchen ist im übrigen gänzlich unbekannt. HILTNERS Untersuchungen hierüber (1) sind zu keinem Abschlusse gelangt.

Da die Knöllchenmikroben in manchen Bodenarten (2), wie Hochmoorboden, nur sparsam vorkommen, und wie oben erwähnt, nicht alle Bacterien für eine bestimmte Leguminosengattung ubiquitär vorhanden sind, so bietet die künstliche Bodenimpfung hier von vornherein größere Chancen als bei Azotobacter. Über diese Bodenimpfungsfragen existiert eine große Literatur (3), die wir hier nur streifen können. Von den angeblich haltbaren in den Handel gebrachten Präparaten aus Radicicola-Reinkulturen haben sich nicht alle als verläßlich erwiesen. Soweit man aus der Literatur ersehen kann, wurden die relativ besten Resultate mit dem schon von NOBBE angegebenen, auf dessen Veranlassung in den Höchster Farbwerken hergestellten „Nitragin" (4), sowie mit dem neueren durch J. SIMON (5) eingeführten Azotogen erhalten. Wenig günstige Erfahrungen liegen über einige andere Impfstoffe des Handels vor (6). Unter bestimmten Bedingungen kann man schon durch Impferde von Leguminosenfeldern namhafte Erfolge erzielen (7). Auf anderweitige rein praktische Fragen, die mit der Leguminosenkultur verbunden sind, kann hier nicht eingegangen werden (8).

---

1) HILTNER, Zentr. Bakt., *10*, 660 (1903); *14*, 47 (1905). — 2) Radicicola im Boden: KELLERMAN u. LEONARD, Science, *38*, 95 (1913). LIPMAN u. FOWLER, Ebenda, *41*, 256 (1915). — 3) Vgl. T. IMASEKI, Bull. Imp. Centr. Agr. Sta. Japan, *1*, 121 (1907). F. NOBBE u. L. RICHTER, Landw. Vers.stat., *60*, 174 (1904). N. STRAMPELLI, Bull. Minist. Agricolt., II, 4 (1905); *6*, 740. NOBBE, RICHTER u. SIMON, Landw. Vers.stat., *68*, 229, 241 (1908). E. B. FRED, Rep. Va. Agr. Ex. Sta. (1908), p. 132. A. TEICHINGER, Monatsh. Landw., *4*, 78 (1911). KELLERMAN, Zentr. Bakt., II, *34*, 42 (1912). E. LAURENT, Rec. Inst. Bot. Bruxelles, *2*, 19 (1906). G. BREDMANN, Landw. Jahrb., *43*, 669 (1912). Methodik steriler Kultur höherer Pflanzen: J. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *29*, 504 (1911). R. COMBES, Compt. rend., *154*, 891 (1912). Kulturgefäß für Impfversuche: KELLERMAN, Bull. Plant. Ind. Circ., 120 A, 3 (1914). Erfolglosigkeit der Impfung auf Lateritböden: EICHINGER, Der Pflanzer, *8*, 190 (1912). Wirkung auf Moorböden: TACKE, Mitt. Ver. Förd. Moorkult. (1918), *36*, 26. — 4) Vgl. VOELCKER, Chem. Zentr. (1897), I, 196; NOBBE, Bot. Zentr., *68*, 171 (1896); FRANK, Landw. Vers.stat., *51*, 441 (1899). NOBBE u. HILTNER, Ebenda, p. 447; M. MAERCKER u. H. STEFFECK, Chem. Zentr. (1898), II, 938; A. P. AITKEN, Ebenda (1899), I, 1258; EDLER, Ebenda (1900), II, 282; MARIA DAWSON, Ann. of Bot., *15*, 511 (1901). HJ. v. FEILITZEN, Zentr. Bakt., II, *23*, 374 (1909). E. GRABNER, Journ. f. Landw., *57* 217 (1909); v. FEILITZEN, Zentr. Bakt., *26*, 345 (1910); *29*, 198 (1911); GOLTE, Illustr. Landw. Ztg. (1910), Nr. 94; A. KÜHN, Zentr. Bakt., *30*, 548 (1911). F. LÖHNIS u. SUZUKI, Ebenda, p. 644. FEILITZEN, Ebenda, *32*, 449 (1911). E. TEISLER, Ebenda, *34*, 50 (1902). Impfen mit Reinkulturen: HILTNER, Dtsch. landw. Presse (1902), p. 119. REMY, Verh. Nat.forsch. (1902), I; HILTNER, Naturwiss. Ztsch. Land- u. Forstwirtsch. (1904), p. 127. MAKRINOW, Russ. Journ. exp. Landw., *14*, 341 (1913). CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., II, *46*, 282 (1916). SIMON, Dtsch. landw. Presse 1915, Nr. 28. — 5) Azotogen: J. SIMON, Dtsch. landw. Presse, *38*, 257 (1911). FEILITZEN, KÜHN, l. c. LÖHNIS, l. c. TEISLER, l. c. J. SIMON, Neuere Ergebnisse bact. Forsch., ihr Wert für die Landwirtsch., Dresden 1908. Dtsch. landw. Presse, *40*, 390 (1913). FEILITZEN u. NYSTRÖM, Journ. Landw., *62*, 285 (1914). BARTHEL, Internat. agr.techn. Rdsch., *4*, 1317 (1913). G. KÖCK, Monatsh. f. Landw. 1914, Wien. RHODIN, Dtsch. landw. Presse, *41*, 1016 (1914). SIMON, Sächs. landw. Ztsch. 1915, Nr. 11. — 6) MOOREsche Bacterien: O. MATTIROLO u. M. SOAVE, Ann. Accad. Agric. Torino, *48*, 291 (1905); V. PEGLION, Staz. Sper. Agr., *38*, 709 (1905); *40*, 156 (1907); J. SIMON, Jahresber. angew. Botan., *5*, 132 (1908); GO. T. MOORE, U. S. Dept. Agric. Bull. Plant. Ind., Nr. 71. Washington 1905. — Nitrobacterien von BOTTOMLEY: v. FEILITZEN, GRABNER, l. c. BREDEMANN, l. c. — 7) Impferde: A. SCHMITTER, Diss. Heidelberg (1893). v. FEILITZEN, l. c. — 8) Z. B. Anbau auf schwerem Boden: G. RITTER, Zentr. Bakt., II, *29*, 650 (1911); Gründüngungsfragen: O. LEMMERMANN u. A. TAZENKO, Landw. Jahrb.. *38*, Erg.bd. V (1909), p. 101.

Auf den hohen Parallelismus der Knöllchensymbiose der Erlenarten mit den Erscheinungen bei Leguminosen, dessen Bedeutung für die Stickstoffaufnahme HILTNER (1) dargetan hat, haben wir bereits hingewiesen. Hier genüge es noch hervorzuheben, daß auch diese Knöllchenbildung durch höheren N-Gehalt des Bodens eingeschränkt wird, und daß die Infektion mit dem Symbionten genau wie bei den Leguminosen durch die Wurzelhaare erfolgt. In Wasser sind die Alnusknöllchen im Gegensatze zu den Leguminosenknöllchen vollständig wirksam. KNO_3-Zusatz hemmt auch in der wässerigen Nährlösung die N-Fixierung. Andere Fälle von Wurzelknöllchenbildung sind nicht so weit untersucht.

Ein sehr merkwürdiger Parallelfall zu den Bacteriensymbiosen in den Wurzelknöllchen ist in neuerer Zeit hinzugekommen in den Bacterienknötchen, welche sich regelmäßig an den Blättern von Myrsinaceen, wie Ardisia, und einiger Rubiaceen wie Psychotria und Pavetta-Arten entwickeln, und über die wir nach ihrer Entdeckung durch ZIMMERMANN wertvolle Untersuchungen von MIEHE und FABER besitzen (2). Während der bei Ardisia vorkommende Symbiont von MIEHE für ein typisches Stäbchenbacterium, Bac. foliicola, angesprochen wird, stellte FABER die Rubiaceenbacterien in die Nähe des Tuberkelbacillus in die MIEHEsche Gruppe der Mycobacteriaceen. In den Blattzellen kommt auch hier eine Bacteroidenbildung vor. FABER hält die Stickstoffbindung durch die Blattknotenbacterien, auch in Reinkultur, für eine entschiedene Sache, während sich MIEHE zurückhaltend äußerte. Ardisia reagiert im Gegensatze zu Leguminosen sehr gut auf N-Darreichung durch den Boden. Die Bacterien sind hier überall schon im Samen enthalten, so daß die Symbiose eine erbliche Erscheinung ist, und nicht wie bei den Leguminosen bei jedem Individuum neu bewerkstelligt werden muß. In dieser Hinsicht gleicht dieser Fall mehr der endophytischen Mycorrhiza, wo z. B. bei Ericaceen solche erbliche Symbiosen gleichfalls vorkommen.

Hinsichtlich nichtknöllchentragender Blütenpflanzen tauchen in der Literatur immer wieder Angaben auf, welche dahin lauten, daß mehr oder weniger verbreitet auch hier Stickstoffixierung vorkomme. Trotz der scharfen Versuchsergebnisse, welche HELLRIEGEL bezüglich der Frage der N-Versorgung der Getreidearten im Vergleiche zu Leguminosen erzielte, und der ebenso kritischen Arbeiten von SCHLOESING und LAURENT, haben sich wenig später FRANK und OTTO (3) bemüht, eine allgemeine Verbreitung der Stickstoffixierung durch die Laubblätter zu erweisen. OTTO und KOOPER (4) haben aber später gezeigt, wo möglicherweise Fehler in diesen Arbeiten liegen. Andere Forscher, wie JAMIESON (5), dachten an die Rolle von Haaren als Stickstoffassimilationsapparat, doch sind diese Angaben,

---

1) L. HILTNER, Landw. Vers.stat., *46*, 531 (1897). Naturwiss. Ztsch. f. Land- u. Forstwirtsch., *1*, 9 (1903). — 2) A. ZIMMERMANN, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 1 (1902). H. MIEHE, Ber. bot. Ges., *29*, 156 (1911); Javanische Studien, kgl. sächs. Ges. Wiss., *32*, Nr. IV (1911); Nat.forsch. Vers. (1912), II, 1, 242; Chem.-Ztg., *36*, 1110 (1912); Biol. Zentr., *32*, 46 (1912); Jahrb. wiss. Bot., *53*, 1 (1913). Ber. bot. Ges., *34*, 576 (1916); Jahrb. wiss. Bot., *58*, 29 (1917). F. C. v. FABER, Ebenda, *51*, 285 (1912); *54*, 243 (1914); Morphologie des Pavetta-Bacteriums: P. GEORGEVITCH, Compt. rend. Soc. Biol., *79*, 411 (1916). Sammelref. VAL. VOUK, Die Nat.wiss. (1913), *1*, 81. Nach H. SOLEREDER, Sitz.ber. phys. med. Soz. Erlangen, *43*, 233 (1911) sind die Blattdrüsen von Heterophyllaea keine Bacterienknoten wie ZIMMERMANN vermutete. — 3) FRANK, Ber. bot. Ges., *7*, 234 (1889). FRANK u. OTTO, Ebenda, *8*, 292 u. 331 (1890); Landw. Jahrb., *21*, 1 (1892); Bot. Ztg., (1893), I, 140. — 4) OTTO u. KOOPER, Landw. Jahrb., *39*, 999 (1910). — 5) T. JAMIESON, Ber. bot. Ges., *28*, 81 (1910).

in deren Verfolg CIESLAR (1) so weit ging, auch für die Waldbäume solche Erscheinungen als wichtige Mittel zur Stickstofferlangung in Anspruch zu nehmen, so wenig kritisch behandelt, daß es leicht war, dieselben überzeugend zu widerlegen (2). Es ist anzunehmen, daß den Behauptungen von MAMELI und POLLACCI, sowie BRIOSI (3) bezüglich des ausgedehnten Vorkommens von Stickstoffassimilation verschieden hohen Grades bei den verschiedensten höheren Pflanzen dasselbe Schicksal bevorsteht (4). Bezüglich der früher von PETERMANN, LIEBSCHER, STOKLASA und einigen anderen Forschern (5) vertretenen Ansicht, daß auch einige nichtleguminose Kulturpflanzen N zu fixieren imstande sind, darf man auf die Wirkung der damals meist noch nicht mitberücksichtigten freilebenden N-fixierenden Bodenbacterien hinweisen. Besonders im Hinblick auf die mehrmals geäußerte Meinung, daß die Stickstoffixierung bei Sinapis und anderen Pflanzen erst bei nicht zu geringer gleichzeitiger Zufuhr von N-Verbindungen einen in Betracht zu ziehenden Wert erreiche, müßten viel bessere Beweise dieser Befähigung vorliegen. Gegenwärtig ist dies jedoch nicht der Fall, und die sorgfältigen Untersuchungen von HELLRIEGEL, NOBBE und HILTNER, P. WAGNER und AEBY, PFEIFFER und FRANCKE, LEMMERMANN (6), die sich besonders auf Sinapis beziehen und denen sich die Arbeiten von KOWERSKI, LOTSY und COATES und DODSON (7), welche Gossypium untersuchten, anschließen, sind in mancher Hinsicht imstande, die abweichenden Ergebnisse der obengenannten Autoren aufzuklären. Allerdings hat HILTNER (8) selbst in neuerer Zeit die Frage so aufgefaßt, daß verschiedene Cruciferen und einige andere Pflanzenarten in der Art ihrer Ernährung mit Stickstoff eine eigenartige Stellung einnehmen.

Daß der Luftstickstoff an dem tierischen Stoffwechsel aktiv teilnimmt, ist gleichfalls als widerlegte Sache anzusehen (9).

---

1) A. CIESLAR, Zentr. ges. Forstwes., *35*, 69 (1909). — 2) L. KNY, Ber. bot. Ges., *27*, 532 (1909); F. KÖVESSI, Zentr. Bakt., *35*, 349 (1912); Compt. rend., *149*, 56 (1909); *152*, 888 (1911); Rev. gén. Bot., *25*, II, 405 (1914); ebenda, *26*, 22 (1914). E. HENRI, Bull. Soc. Sci. Nancy (3), *10*, 1 (1909). H. VATER, Tharander forstl. Jahrb., *59*, 261 (1909). — 3) E. MAMELI u. G. POLLACCI, Atti Acc. Linc. Roma (5), *19*, I, 501, 569 (1910); *20*, I, 680 (1911); Atti Ist. Bot. Pavia, *15*, II, 159 (1911); *13*, 351; *14*, 159 (1909). Atti Acc. Linc. (5), *24*, I, 966 (1915). G. BRIOSI, Rend. Acc. Linc. (1910) (5), *19*, I, 501. — Zu BOTTOMLEYS Angabe: A. D. HALL, Nature, *81*. 98 (1909); *82*, 218 (1909). W. B. BOTTOMLEY, Ebenda, *82*, 218 (1909). — 4) Vgl. MOLLIARD, Compt. rend., *160*, 310 (1915). Rev. gén. Bot., *28*, 225 (1916). — 5) A. PETERMANN, Justs Jahresber. (1891), I, 31; (1892), I, 424; Mém. Ac. Roy. Belg. (1891); *47* (1892); Bot. Zentr., *55*, 315 (1893); *51*, 49; Beihefte, *5*, 228 (1895); Kochs Jahresber. (1890), p. 134. LIEBSCHER, Landw. Jahrb., *41*, 139 (1893). J. STOKLASA, Landw. Jahrb., *24*, 827 (1896). Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *1*, 78 (1898). — 6) F. NOBBE u. L. HILTNER, Landw. Vers.stat., *45*, 155 (1894). RICHTER, Ebenda, *51*, 221 (1898). P. WAGNER, Dtsch. landw. Presse (1893); (1894), p. 54; J. H. AEBY, Landw. Vers.stat., *46*, 409 (1896). TH. PFEIFFER u. FRANKE, Ebenda, p. 117; *48*, 455 (1897). O. LEMMERMANN u. E. BLANCK, Ebenda, *69*, 145 (1908); *73*, 425 (1910); PFEIFFER, GUTTMANN u. THIEL, Mitteil. landw. Inst. Breslau, *5*, 657 (1910) wollen Sinapis immerhin eine Sonderstellung unter den Nichtleguminosen zusprechen. — 7) ST. V. KOWERSKI, Diss. Halle (1895); Beiheft. bot. Zentr., *5*, 539 (1895). Kochs Jahresber. (1895), p. 266. J. P. LOTSY, U. S. Agric. Dept., Nr. 18 (1894). CH. COATES u. W. R. DODSON, Journ. Amer. Chem. Soc. *18*, 425 (1896). — 8) Vgl. HILTNER, Mitt. dtsch. landw. Ges., 1915, St. 14; Prakt. Bl. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz 1917, p. 110. Angebl. Mikrobenansamml. an Cruciferenwurzeln: A. CAUDA, Internat. agr.techn. Rdsch., *7*, 334 (1916). Kritik: PFEIFFER, Fühlings landw. Ztg., *64*, 521 (1915); CLAUSEN, Landw. Ztg., *38*, 134 (1919). — 9) Vgl. C. OPPENHEIMER, Biochem. Ztsch., *4*, 328 (1907).

Sechsunddreißigstes Kapitel: **Der Eiweißstoffwechsel der Algen.**

Die in Algen vorkommenden Stickstoffverbindungen haben in den zahlreichen seit BRACONNOTS Untersuchung von Nostoc (1) angestellten Analysen von Algen nicht viel Berücksichtigung erfahren, und so können bezüglich der Eiweißstoffe und Aminosäuren bei den verschiedenen Algen derzeit kaum genauere Angaben gemacht werden. Nach den Stickstoffbestimmungen zu schließen, dürfte der Gehalt der Algen an Eiweißstoffen im allgemeinen ein ziemlich hoher sein, wie er sonst plasmareichen, an Skelettsubstanzen armen, vegetativen Organen entspricht.

Vom janischen Nostoc phylloderma gab NAMIKAWA (2) 81,93% Trockensubstanz an, darin 24,75% Rohprotein. Lufttrockene Oscillaria prolifica nach TURNER (3) 9,7% Wasser und 46,25% Protein. WARINGTON (4) führt als „N-haltige Substanz" in Prozenten der Trockensubstanz an: 12,41% für Enteromorpha compressa, 8,99% für die Laminariacee Capea elongata, 7,79% für Laminaria saccharina, 8,42% für Cystoseira, 8,29% für Ulopteryx pinnatifida. SESTINI, BOMBOLETTI und DEL TORRE (5) fanden an Rohprotein in der lufttrockenen Substanz von

	Wassergehalt	Protein
Ulva latissima	29,75%	13,35%
Valonia aegagropila . .	7,62%	5,36%
Gracilaria confervoides .	20,01%	16,25%
Fucus vesiculosus . . .	27,11%	8,21%
Vaucheria Pilus	20,50%	16,88%

Noch höhere Eiweißwerte finden wir teilweise bei Analysen von KÖNIG und BETTELS (6):

	Wasser	Gesamt-N	wasserlösl. N-Substanz
Porphyra tenera . . .	4,57%	34,19%	21,75%
Gelidium cartilagineum.	13,00%	17,00%	7,37%
Laminaria japonica . .	4,20%	7,81%	5,44%
Cystophyllum fusiforme	15,15%	8,06%	4,25%
Ecclonia bicyclis . . .	11,56%	13,62%	7,50%

Seetanganalysen von BECKMANN und BARK (7) ergaben für (lufttrock.):

	Wasser	Rohprotein
Fucus vesiculosus und serratus v. d. westfranz. Küste	12,39%	4,96%
Fucus serratus und balticus v. Rügen . . .	12,31%	4,37%
Ascophyllum nodosum, Norweg.	11,10%	5,96%
Laminaria Cloustoni, Norweg.	12,40%	5,86%
Laminaria saccharina, Norweg.	13,58%	6,37%

Nach LOEW und BOKORNY (8) enthalten Spirogyra und andere Fadenalgen 28—32% Eiweiß in der Trockensubstanz.

---

1) BRACONNOT, Ann. de Chim., *87*, 237 (1813). — 2) S. NAMIKAWA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 123 (1906). — 3) B. TURNER, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 1402 (1916). — 4) R. WARINGTON, Chem. News, *40*, 195 (1879). — 5) SESTINI, zit. bei WOLFF, Aschenanalysen, *2*, 108. — 6) J. KÖNIG u. J. BETTELS, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, *10*, 457 (1905). — 7) BECKMANN u. BARK, Sitz.ber. preuß. Akad. Berlin 1916, p. 1009. — N-Gehalt von pazifischen Küstentangen: STEWART, Journ. Agr. Res., *4*, 21 (1915). Bestimmung: CULLEN, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 581 (1914). — 8) O. LOEW u. TH. BOKORNY, Journ. prakt. Chem. (1887).

Über die chemische Natur der genuinen Eiweißkörper bei Algen, ihre Nucleoproteide, fehlen Untersuchungen vollständig. MARX (1) sah in künstlichen Oscillaria-Kulturen unter bestimmten Bedingungen klumpige Einlagerungen in den Zellen auftreten, die er für Ablagerungen von Reserveeiweiß hielt. KOHL (2) sprach die Cyanophycinkörner als Eiweißkrystalle an. Die Natur dieser Gebilde ist jedoch noch ebenso kontrovers wie die Natur der sogenannten Zentralkörner im Zentralkörper der Cyanophyceenzellen, welche A. MEYER (3) mit Volutin identifizierte. Volutin gab MEYER auch von Bacillariaceen, Conjugaten, Chlorophyceen und Rhodophyceen an. Es ist mir zweifelhaft, ob es sich in allen diesen Fällen um dieselbe nucleinartige Substanz handelt. Einige Angaben berühren das Vorkommen von proteolytischen Enzymen bei Algen. O. RICHTER (4) fand bei der Diatomee Nitzschia palea in Reinkulturen ein eiweißlösendes Enzym. Nach TEODORESCO (5) kommt ein Nuclein spaltendes Enzym verbreitet bei Algen vor; Chlamydomonas, wie Cyanophyceen spalten Nucleinsäure und bauen dieselbe ab. Verflüssigung von Gelatinesubstrat wurde schon früher durch BEIJERINCK (6) bei Scenedesmus acutus gefunden, durch ADJAROFF (7) bei Chlorella und bei Stichococcus. Bei Scenedesmus nimmt aber diese Enzymproduktion nach BEIJERINCK mit der Zeit ab. Eine wichtige Rolle müssen proteolytische Enzyme natürlich bei jenen amöboiden Stadien von Algen spielen, bei denen animalische Ernährung vorauszusetzen ist (8).

BEIJERINCK, welcher zuerst auf die Benutzung von Gelatineplatten für die Isolierung von Algenreinkulturen hingewiesen und Flechtenalgen selbständig gezüchtet hatte, zeigte auch, daß die Gonidienalge von Physcia parietina, Cystococcus humicola, zu ihrem normalen Gedeihen Darreichung von „Pepton“, d. h. Proteosen, verlangt, und wahrscheinlich durch die Pilzsymbiose einer solchen Ernährungsweise angepaßt sein dürfte. Die Alge wächst wohl auf 0,2% Ammoniumnitrat, auch auf Calciumnitrat, bildet jedoch viel kleinere Zellen und vermehrt sich außerordentlich langsam. Diese eigenartige Anpassung an Ernährung mit organischen N-Verbindungen bei Flechtenalgen wurde auch von ARTARI und STABINSKA (9) beobachtet. Hingegen zieht nach LETELLIER (10) Cystococcus und Coccomyxa anorganischen N vor. Bei den Nostoc-Gonidien von Peltigera gelang es Protease nachzuweisen. Die Behauptung von BEIJERINCK, daß auch Scenedesmus Pepton bevorzuge, ist durch KLEBS (11) in Abrede gestellt worden, mit dem Bemerken, daß diese Alge in üppigster Weise ohne organische Substanz auf Nitratnährboden zu wachsen vermöge. Vielleicht gibt es hier verschiedene biologische Rassen, auch für Stichococcus bacillaris, den ARTARI (12) gleich

---

1) F. A. MARX, Botan. Zentr., *53*, 174 (1893). — 2) F. G. KOHL, Organis. u. Physiol. d. Cyanophyceenzelle. Jena (1903); Beihefte bot. Zentr., *18*, I, p. 3 (1904). Auch A. FISCHER, Botan. Ztg. 1905, I, Heft IV—VI nimmt Eiweißcharakter der Cyanophycinkörner an. STAEHELIN, Ber. bot. Ges., *34*, 893 (1916) desgleichen f. d. Cyanophycinkörner von Porphyridium cruentum. — 3) A. MEYER, Botan. Ztg. (1904), I, Heft 7. Eiweißnatur der Stachelkugeln von Chara: VOTAVA, Österr. bot. Ztsch., 1914, p. 442. — 4) O. RICHTER, Sitz.ber. Wien. Akad., *115*, I, 27 (1908). Ber. bot. Ges., *21*, 493 (1903). — 5) E. C. TEODORESCO, Compt. rend., *155*, 300 u. 464 (1912). — 6) BEIJERINCK, Botan. Ztg. (1890), Nr. 45. Arch. Néerland., *24*, 278 (1891). Zentr. Bakt., *13*, 368 (1893). — 7) M. ADJAROFF, Rech. exp. sur la Physiol. de quelques Algues vertes. Genève 1905. — 8) Vgl. A. PASCHER, Ber. bot. Ges., *33*, 427 (1915). — 9) A. ARTARI, Bull. Soc. Nat. Moscoue (1899), p. 6. T. M. STABINSKA, Publ. Inst. Bot. Genève (8), 11. fasc. (1914). — 10) A. LETELLIER, Thèse Genève 1917. — 11) G. KLEBS, Beding. d. Fortpflanz. b. einig. Algen u. Pilzen (1896), p. 183. — 12) A. ARTARI, Ber. bot. Ges., *19*, 8 (1901).

gut auf Ammoniumnitrat wie Pepton wachsen sah, ist es möglich, daß die als Flechtenalgen auftretenden Formen dieser Organismen als „Peptonorganismen“ im Sinne BEIJERINCKS zu gelten haben. Haematococcus pluvialis gedeiht nach PRINGSHEIM (1) gut auf Aminosäuren, Fleischextrakt oder Eiweiß, aber auch mit Ammonsalzen oder Nitrat. Stickstoffmangel beeinflußt die Hämatochrombildung. Nach BEIJERINCK wächst ferner Chlorella vulgaris auf einem die Albumosen und Aminosäuren des Malzextraktes enthaltenden Substrate bisweilen besser, als auf inorganischem Nährboden, wenn sie auch nachweislich Ammoniumsalze, Nitrite und Nitrate zu assimilieren vermag. Bei Coelastrum proboscoideum BOHL. hat Pepton nach RAYSS (2) schädlichen Einfluß. Bemerkt sei, daß auch die Zoochlorellen der Süßwasserspongien keine Vorliebe für organische N-Quellen zeigen (3).

Mixotrophe Algen, Formen, die auch im natürlichen Substrate reichliche Gegenwart organischer Stoffe lieben, gibt es anscheinend nicht wenige. Für Euglena gracilis bewies PRINGSHEIM (4), daß sie gut in stark faulendem Substrat, und mit Bacterien gemischt gedeiht, Aminosäuren gut aufnimmt, und auch im Dunklen durch Pepton stark gefördert wird. Bei Mangel an Stickstoff tritt Reduktion der Chromatophoren ein, Verarmung an Chlorophyll, wobei die Carotinoide hervortreten. Hingegen sind die Cyanophyceen, die man gleichfalls so oft an Orten findet, die viel organische Stoffe enthalten, nach demselben Forscher (5), nicht zu jenen Organismen zu rechnen, bei denen organische N-Verbindungen den Nitraten und Ammoniumsalzen überlegen sind. Pepton und Asparagin wirkten bei Oscillaria tenuis sehr gut, Leucin, Glykokoll und Acetamid jedoch nicht. Wie es mit dem angeblichen Anteil der Cyanophyceen (Nostocaceen) an den Ammonisationsvorgängen im Boden steht, bleibt noch näher zu untersuchen (6). Für einen blaugrünen Flagellaten, Cryptoglena americana, gab SCHÜLER (7) an, daß er, wiewohl Alkali- und Ca-Nitrat sowie Ammoniumsulfat gut verarbeitet werden, doch besonders organische N-Verbindungen, wie Aminosäuren, Pepton bevorzuge. Mannigfache Übergänge zwischen heterotropher, mixotropher und autotropher Lebensweise ergeben sich bei Diatomeen, wie man schon aus dem verschiedenen Farbstoffgehalt der Chromatophoren schließen kann. Für die gänzlich farblose Nitzschia putrida Ben. fand RICHTER (8), daß Eiweiß, Pepton, besonders gut Leucin, dann Asparagin verarbeitet werden, jedoch auch Nitrate und Ammoniumsalze. Für niedere Volvocineen, Chlamydomonas, Carteria, fand JACOBSEN (9), daß sich bestimmte Formen in faulendem Eiweiß am Licht anhäufen. Im Dunklen erschienen nur Polytoma und Chlorogonium unter diesen Verhältnissen, von denen die erste völlig farblos und heterotroph ist. Für die aus Schmutzwasser isolierte Alge Chlorella pyrenoidosa berichtet H. CHICK (10), daß sie in Ammoniumsalzen entschieden am besten wächst.

Schließlich seien noch eine Reihe von Erfahrungen erwähnt, welche sich auf die Nährwerte verschiedener N-Verbindungen bei Algen beziehen.

---

1) E. G. PRINGSHEIM, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 413 (1914). — 2) TSCH. RAYSS, Thèse Genève 1915. — 3) Vgl. A. LIMBERGER, Sitz.ber. Wien. Ak., *127*, I, 395 (1918). — 4) E. G. PRINGSHEIM, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 1 (1913). Für Chlamydomonas Ehrenbergi: ARTARI, Jahrb. wiss. Bot., *52*, 410 (1913). — 5) E. G. PRINGSHEIM, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 49 (1913). — 6) W. G. SACKETT, Zentr. Bakt., *40*, 168 (1914). — 7) J. SCHÜLER, Diss. Kiel (1910). — 8) O. RICHTER, Denkschrift. Wien. Ak., *84*, 660 (1909). — 9) H. C. JACOBSEN, Ztsch. Botan., *2*, 145 (1910). — 10) H. CHICK, Proc. Roy. Soc., *71*, 458 (1903).

Die Stickstoffwasserstoffsäure N_3H erweist sich nach LOEW (1) allgemein in höheren Konzentrationen schädlich. Geringere Konzentrationen, wie 0,1% werden besser vertragen, ja in sehr großer Verdünnung kann infolge der Umsetzung zu NH_3 ein gewisser Nähreffekt hervortreten. Hydroxylamin war für Algen wie sonst für Organismen in Versuchen von LUTZ (2) sehr schädlich. Amidosulfonsäure scheint indifferent zu sein, und weder als Gift noch als N-Quelle zu wirken (3). Harnstoff und Guanidin konnten bei den durch LOEW und BOKORNY (4) geprüften Algen nicht ohne Schaden vertragen werden, während Urethan eine ungünstige Wirkung nicht entfaltete. Cyanursäure erwies sich schlechter als Urethan, noch mehr das Kaliumrhodanid für Spirogyra (5). LUTZ (6) stellte ausgedehnte Versuche über die Wirkung verschiedener Amine auf Algen an, von denen die meisten, vom Methylamin bis Allylamin, primäre, sekundäre und tertiäre Basen, ferner auch Tetraammoniumbasen sich als benutzbar erwiesen. Auch das von Phanerogamen nicht assimilierbare Benzylamin, Allylamin, ferner Pyridin konnten von Algen (Mesocarpus, Protococcus, Oscillaria) als N-Quelle benützt werden. Giftig hingegen waren Naphthylamin und Diphenylamin. Von Aminosäuren wurde Glykokoll durch BOKORNY (7) als gute N-Quelle für Algen gefunden. Nach TREBOUX (8) können Scenedesmus, Coelastrum, Stichococcus, Chlorella Aminosäuren im Dunklen verarbeiten, und es trat Geruch der Kulturen nach Ammoniak auf, so daß Desamidierung anzunehmen ist. Pikrinsäure ist für Algen stark giftig (9). LOEW (10) fand Pyrrol giftiger als Pyridin, Chinolin weniger schädlich als Chinin. Chinin übertrifft auch nach den Erfahrungen von G. SCHWARZ (11) andere Pflanzenalkaloide, wie Strychnin, Nicotin und Coffein an schädlicher Wirkung.

Die Frage, inwieweit für die natürliche Ernährung der Algen Ammoniumsalze und Nitrate in Frage kommen und wo für die verschiedenen Algen der relative Vorteil liegt, ist trotz mancher Studien in dieser Richtung noch nicht in allen Punkten aufgeklärt. Daß die Algen Nitrate mit dem Wasser aufnehmen, und sich damit ernähren, stellte bereits BINEAU (12) fest. Später fanden LOEW und BOKORNY (13), daß Nitrate für Zygnemaceen eine bessere N-Nahrung liefern als Ammoniumsalze, jedoch ergab sich bei anderen Algen das umgekehrte Verhältnis. Auch soll nach LOEW Kalisalpeter weniger günstig wirken als Natronsalpeter, eine Erfahrung, welche für Cyanophyceen (Phormidium) durch BORESCH gleichfalls konstatiert worden ist. Cyanophyceen, welche MAERTENS (14) untersuchte (Oscillar. tenuis), konnten am besten mit Calciumnitrat ernährt werden; Ammonsulfat und -nitrat waren nicht gut brauchbar. Kaliumnitrit zu 0,01% wurde von der Oscillaria gut verarbeitet, von anderen Formen nicht. Für Microthamnium Kützingianum Näg. schien in den Versuchen von MOLISCH (15) Ammoniumphosphat gleich gut zu wirken, wie Kalium- oder Magnesiumnitrat. BENECKE (16) bezweifelt die allgemeine Gültigkeit des von LOEW behaupteten Unterschiedes zwischen

---

1) O. LOEW, Botan. Zentr., *48*, 250 (1891). — 2) L. LUTZ, Compt. rend. Cong. soc. sav. (1899). — 3) N. MAENO, Chem. Zentr. (1897), I, 936. O. LOEW, Justs bot. Jahresber. (1896), I, 13. — 4) O. LOEW u. BOKORNY, Journ. prakt. Chem., *30* (1887). — 5) BOKORNY, Chem.-Ztg. (1896), p. 53. — 6) L. LUTZ, Ann. Sci. Nat. (7), *1*, 75 (1899). — 7) BOKORNY, Chem.-Ztg. (1896), p. 53. — 8) O. TREBOUX, Ber. bot. Ges., *23*, 432 (1905). — 9) BOKORNY, Chem.-Ztg. (1896), p. 96. — 10) O. LOEW, Pflüg. Arch., *40*, 447 (1888). — 11) G. SCHWARZ, Beiheft. Bot. Zentr. (1897), p. 475. — 12) BINEAU, Mém. Acad. Sci. Lyon, *3*, 853. — 13) O. LOEW u. BOKORNY, Journ. prakt. Chem., *30* (1887). — 14) H. MAERTENS, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 439 (1914). — 15) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Akad., *104*, I, 793. Okt. 1895. Für Chlamydomonas Ehrenbergi: ARTARI, Jahrb. wiss. Bot., *52*, 410 (1913). — 16) W. BENECKE, Botan. Ztg. (1898), I, 89.

den Conjugaten, welche Nitrate vorziehen, und niederen Algen, die am besten durch Ammoniumsalze ernährt werden. Er fand vielmehr, daß Spirogyra usw. ganz gut bei Darreichung von Ammoniumsalzen gedeiht, wenn auch größere Ammoniumsalzmengen schädlich schienen. Übrigens sieht man Spirogyra auf natürlichen Standorten manchmal in ammoniakreichem Milieu wachsen, wo es nicht wahrscheinlich ist, daß erst eine Nitrifikation der Ammoniumsalze vollzogen werden muß, ehe dieselben resorbiert werden. Wie schon erwähnt, fand H. CHICK die Chlorella pyrenoidosa gleichfalls als eine Alge, die Ammoniumsalze bevorzugt, und auch Ulva latissima wächst gut in Ammoniumsalzlösungen (1). Hingegen soll nach CHARPENTIER (2) Cystococcus humicola Ammoniumsalze schlechter vertragen als Nitrate. Angaben über Aufnahme von Nitraten und Ammoniumsalzen durch Algen in Agar-Reinkultur findet man in der Arbeit von E. PRINGSHEIM (3). Für Nostoc zeigte LOEW (4), daß er sich in 0,1% KNO_3 reichlich vermehrt, aber den freien Luftstickstoff nicht assimilieren kann. Ähnliches gilt nach GLADE (5) für Cylindrospermum.

Die Frage, ob der freie atmosphärische Stickstoff durch Algen assimiliert werden könne, wurde bereits oben berührt. Die älteren Angaben von SCHLOESING und LAURENT, von FRANK, ferner von KOCH und KOSSOWITSCH (6) über positive Befunde bei Chlorophyceen und Cyanophyceen, und über N-Fixierung durch eine Reihe grüner und blauer Erdalgen, sind nicht vom Verdachte frei, daß beigemengte stickstoffixierende Bacterien für den Ausfall der Versuche verantwortlich zu machen sind. Später haben überdies KOSSOWITSCH, sowie KRÜGER und SCHNEIDEWIND (7) an der Hand verbesserter Methoden kein positives Ergebnis erzielt, und BOUILHAC (8) äußert sich hinsichtlich Nostoc nur dahin, daß dieser in Symbiose mit Bacterien, aber nicht für sich allein Stickstoff aus der Luft zu assimilieren imstande sei. Möglicherweise gilt das gleiche von dem neuerdings durch OES studierten Fall von Anabaena Azollae. Negative Resultate bezüglich der Stickstoffixierung erhielt MOLISCH bei Microthamnium Kützingianum. Die Erfahrungen von BENECKE über die durch Mangel an Stickstoffverbindungen im Substrate verursachten auffälligen Störungen, welche an verschiedenen Algen auftreten: Etiolement aus „Stickstoffhunger" bei Siphoneen, Cladophoren und Conjugaten, erbringen ebenfalls bemerkenswerte Stützpunkte für die Anschauung, daß hier N-Fixierung nicht stattfindet. Besonders auffallend sind diese Veränderungen bei den Cyanophyceen, wie die Arbeiten von BORESCH und von MAGNUS und SCHINDLER gezeigt haben (9). Oscillarien und Phormidiumarten werden im Zustande des N-Hungers rostbraun, und nehmen bei Hinzufügen von Nitrat oder einer anderen geeigneten N-Quelle wieder ihre normale grüne Farbe an. Dies geschieht sowohl im Dunklen als im Licht. Im Dunklen ist Sauerstoff hierzu unbedingt nötig.

---

1) LETTS u. HAWTHORNE, Biedermanns Zentr. Agr. Chem. (1902), p. 224. G. L. FOSTER, Ann. Missouri, Bot. Gard., *1*, 229 (1914). — 2) P. G. CHARPENTIER, Ann. Inst. Pasteur, *17*, 321 (1903). — 3) E. G. PRINGSHEIM, Beitr. Biol. d. Pfl., *11*, 305 (1912). — 4) O. LOEW, Biol. Zentr., *10*, 377 (1890). Die Angaben von PRANTL, Hedwigia, *28*, 135 (1889), sind wohl durch ungenaue Methoden veranlaßt gewesen. — 5) R. GLADE, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 295 (1914). — 6) SCHLOESING u. LAURENT, Ann. Inst. Pasteur, *5*, 832 (1892). A. B. FRANK, Ber. botan. Ges., *7*, 34 (1889); Landw. Jahrb. (1888), H. 2; Botan. Ztg. (1893), p. 146. A. KOCH u. KOSSOWITSCH, Ebenda (1893), II, 321. — 7) P. KOSSOWITSCH, Ebenda (1894), I, 97; W. KRÜGER u. SCHNEIDEWIND, Landw. Jahrb., *29*, 771 (1900). — 8) R. BOUILHAC, Compt. rend., *125*, 880 (1897); *123*, 828 (1896). — 9) K. BORESCH, Jahrb. wiss. Botan., *52*, 145 (1913). — W. MAGNUS u. B. SCHINDLER, Ber. botan. Ges., *30*, 314 (1912). H. MAERTENS, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 439 (1914).

Im Licht erfolgt auch im sauerstoffreien Raume langsam Ergrünen, in dem Maße als die spurenweise einsetzende Assimilation der Atmungs-CO_2 etwas Sauerstoff liefert. Hier ist demnach eine Stickstoffixierung aus der Luft wohl ausgeschlossen. Wenn auch die Möglichkeit einer N-Fixierung durch bestimmte andere Algen nicht absolut in Abrede gestellt werden soll, und die bezüglich mancher Cyanophyceen immer wieder auftauchenden Angaben im Auge behalten werden müssen, so ist es doch geboten, die von BEIJERINCK (1) gemachten Mitteilungen, wonach Nostoc und Anabaena N fixieren, vorläufig noch nicht als sicher fundiert anzusehen und vor allem überzeugende Beleganalysen an bacterienfreien Reinkulturen von Algen abzuwarten.

Hinsichtlich der Flechten können wir anhangsweise nur bemerken, daß über ihren Stickstoffhaushalt so gut wie nichts bekannt ist. Daß hier interessante Verhältnisse aufgedeckt werden können, beweisen die Beobachtungen von SERNANDER (2) über nitrophile Flechten. Bestimmte Formen siedeln sich vor allem da an, wo reichlich Exkremente von Seevögeln haften bleiben. Sie wurden als „Ornithokoprophile Flechten" bezeichnet. NIENBURG (3) hat auf das Vorkommen nitrophiler Flechtengenossenschaften auf der Rinde von Alleebäumen an Straßen hingewiesen. Viele andere Formen dürften vermutlich zu den oligonitrophilen Organismen zählen. Das Vorkommen von Nitraten und Nitriten läßt sich nach SALOMON (4) in Flechten nur selten nachweisen, hingegen gelingt der Nachweis von Ammoniumsalzen.

Siebenunddreißigstes Kapitel: **Der Eiweißstoffwechsel der Moose.**

Über die stickstoffhaltigen Verbindungen der Laub- und Lebermoose, sowie über die Gewinnung des Stickstoffes bei diesen Pflanzen liegt erst sehr dürftiges Material vor, aus dem sich kaum ein richtiges Bild der tatsächlichen Verhältnisse konstruieren läßt.

TREFFNER (5) verdankt man eine größere Reihe von Analysen verschiedener Laubmoose, in denen auch das im Wasserextrakt vorhandene und das in Natronlauge lösliche Eiweiß bestimmt wurde. Er fand bei:

	Eiweiß löslich in H_2O	Eiweiß in NaOH löslich	Eiweiß in NaOH unlöslich
Polytrichum commune . .	0,994 %	0,181 %	3,79 %
Sphagnum cuspidatum . .	1,42 %	0.55 %	4,12 %
Hylocomium splendens .	2,19 %	0,46 %	4.39 %
Dicranum undulatum . .	1,14 %	0,78 %	4.37 %
Orthotrichum anomalum .	2,98 %	1,81 %	3,54 %
Mnium affine	3,18 %	1,55 %	4,12 %
Funaria hygrometrica . .	2,26 %	2,03 %	3,42 %
Schistidium apocarpum .	1,47 %	2,36 %	5,30 %
Ceratodon purpureus . .	4,50 %	4,04 %	4,41 %
Climacium dendroides . .	0,71 %	1,99 %	4,39 %

1) M. BEIJERINCK, Zentr. Bakt., *7*, 562 (1901). — 2) R. SERNANDER, Svensk. Botan. Tidskrift, *6*, 803 (1912). — 3) W. NIENBURG, Ztsch. Bot., *11*, 1 (1919). — 4) H. SALOMON, Jahrb. wiss. Bot., *54*, 339 (1914). In Parmelia saxatilis soll nach KEEGAN, Chem. News, *114*, 74 (1916) viel Nitrat vorkommen. — 5) E. TREFFNER, Diss. Dorpat. 1881. Tabelle reproduziert in Just bot. Jahresber. 1881, Bd. I, p. 158.

Für einige Lebermoose hat LOHMANN (1) folgende Zahlen geliefert:

In Prozenten der Trockensubstanz bei

	Fegatella conica	Marchantia polymorpha	Pellia epiphylla	Metzgeria furcata	Mastigobryum trilobatum
Gesamt-N . . .	2,35	1,92	2,36	1,61	1,07
Eiweiß-N . . .	2,08	1,55	1,39	1,39	1,00
Unverdaulicher N	0,80	0,52	0,86	0,67	0,54

Über die chemischen Eigenschaften der vorhandenen Eiweißstoffe und ihrer Spaltungsprodukte ist nichts bekannt.

Die Stickstoffgewinnung der Moose ist ein fast gänzlich unbearbeitetes Gebiet, obwohl es für Experimentaluntersuchungen an passenden Objekten, wie es z. B. die rasch wachsenden und leicht kultivierbaren Marchantia-Thallome und viele Protonemen sind, nicht mangelt. Einen Anfang bilden die Studien von SERVETTAZ (2) an steril kultivierten Moosprotonemen, die auch die N-Versorgung betrafen. Verarbeitet werden sowohl NH_4-Salze als Nitrate. Pepton wird assimiliert und fördert die Bildung der Sexualorgane.

Schon oben ist auf die Mycorrhiza ähnliche Durchwucherung der Rhizoiden vieler Lebermoose durch Pilze hingewiesen worden, welche ziemlich viel untersucht worden ist (3). Doch ist es unbekannt, welche Bedeutung diese Vorkommnisse für die Ernährung der betreffenden Moose haben können. Fälle von Stickstoffixierung sind auch hier nicht ausgeschlossen.

Abschnitt 3: **Die Proteide im Stoffwechsel der Blütenpflanzen.**

Achtunddreißigstes Kapitel: **Die Reserveproteide der Samen.**

§ 1.

Allgemeine Orientierung und Vorkommen.

Von allen pflanzlichen Eiweißstoffen waren es die Proteinstoffe der Samen, welchen sich das Interesse der Chemiker am frühesten zuwendete, da diese Substanzen als Nahrungsmittel des Menschen von größter Bedeutung sind. Schon im 18. Jahrhundert fand BECCARI (4), daß man einen von ihm als „Pflanzenleim" bezeichneten Bestandteil dem Kleber durch Alkohol entziehen kann. BRACONNOT (5) benannte als „Legumin" eine Substanz, die er durch Extraktion mit warmem Wasser und Fällung des Filtrates mit Säure aus zerkleinerten Erbsen und Bohnen gewann; „auflösliches Eiweiß" waren für ihn alle in Wasser löslichen Stoffe, die durch Alkohol,

1) J. LOHMANN, Beiheft. bot. Zentr., *15*, 215 (1903). — 2) C. SERVETTAZ, Ann. Sci. nat. Bot. (9), *17*, 111 (1913). — 3) Hierzu: KNY u. BÖTTGER, Verh. bot. Ver. in Brandenburg (1879). JANSE, Ann. Jard. Bot. Buitenzorg, *14* (1897). B. NEMEC, Ber. bot. Ges., *17*, 311 (1899). Beihefte bot. Zentr., *16*, 253 (1904). M. GOLENKIN, Flora (1902), p. 209. A. J. GARJEANNE, Beihefte bot. Zentr., *15*, 470 (1903). J. PEKLO, Bull. int. Acad. Sci. Bohême (1903). GARJEANNE, Flora, *102*, 147 (1911). — 4) BECCARI, Commentar. Bononiensis, Ib. De frumento. BECCARI starb 1766. — 5) BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys., *34*, 68; *43*, 347. Das Legumin wurde schon 1805 von EINHOF gefunden: Gehlens allg. Journ. d. Chem. u. Phys., 6, 126 u. 548.

Säuren oder Hitzekoagulation fällbar sind; „koaguliertes Eiweiß“ nannte er die in Wasser unlöslichen schwefel- und phosphorhaltigen Stoffe. Später unterschied LIEBIG Pflanzenfibrin, Pflanzenalbumin und Pflanzencasein. PROUST (1) gewann zuerst das „Amandin“ aus Mandeln. DENIS (2) fand 1859, daß man aus Mandeln, Leguminosensamen, Weizenmehl durch Digerieren mit 10% Kochsalzlösung Eiweißstoffe isolieren kann. Er nannte dieselben „glutine“.

HOPPE-SEYLER (3) stellte diese Substanzen denjenigen tierischen Eiweißstoffen zur Seite, welche er schon früher als „Globuline“ bezeichnet hatte. Am ausführlichsten hatte sich bis zum Jahre 1870 RITTHAUSEN (4) mit der Darstellung und dem Studium der Eigenschaften der pflanzlichen Samenproteide befaßt, welche er im wesentlichen durch die Einwirkung sehr verdünnter kalter Alkalilauge auf das zerkleinerte Samenmaterial darstellte. A. SCHMIDT (5) machte aber in einer aus HOPPE-SEYLERS Laboratorium stammenden Arbeit darauf aufmerksam, daß man auf diese Weise die nativen Samenproteide nicht mehr gewinnen kann. RITTHAUSEN hatte folgende Gruppen von Eiweißstoffen aus Samen zu unterscheiden versucht: 1. Pflanzeneiweiß: in Wasser löslich beim Erhitzen koagulierend; 2. Pflanzencasein: in Wasser wenig löslich, reichlich löslich in Kaliwasser und in basischem Kaliumphosphat. Davon wurden unterschieden: Legumin, Glutencasein aus Kleber und Conglutin als einzelne Arten. Die Legumin- und Glutencaseinpräparate RITTHAUSENS waren in 10—20% Neutralsalzen unlöslich; 3. Kleberproteine: löslich in Alkohol. RITTHAUSEN unterschied hiervon Gliadin, Mucedin und Glutenfibrin.

MASCHKE (6) gewann 1859 zuerst das Reserveproteid der Paranuß aus dem Extrakt als künstlichen krystallisierten Niederschlag, was von SACHSSE (7) wiederholt wurde. Die grundlegenden Ideen von HOPPE-SEYLER über die Natur der Samenproteide finden sich zuerst 1877 in einer Arbeit von TH. WEYL (8) ausführlich behandelt, in der gezeigt wird, daß die Reserveproteide der Samen viele Analogien mit den tierischen Globulinen aufweisen; ein Teil der Samenproteide wurde in konzentrierter Natriumchloridlösung löslich, ein anderer Teil darin unlöslich gefunden. Die ersteren verglich WEYL mit richtigem Blicke mit den tierischen Vitellinen und zeigte, daß die krystallisierbare Eiweißsubstanz von Bertholletia hierzu gehört. Die letzteren verglich er mit dem Myosin der quergestreiften Muskeln. Später suchte PALLADIN (9) darzutun, daß dieses Pflanzenmyosin nur Kalkverbindungen der NaCl-löslichen Phytovitelline in sich begreift.

Wahrscheinlich ist der allergrößte Teil der Reserveproteine der Samen in den bekannten „Aleuronkörnern“ oder „Proteinkörnern“ der Nährgewebszellen enthalten. Dieselben pflegen besonders schön und groß ausgebildet in Fettsamen aufzutreten; doch führen auch stärkehaltige Nährgewebe häufig neben dem Amylum Proteinkörner. Die Protein-

---

1) PROUST, Journ. Phys. et Chim., *54*, 199. — 2) DENIS, Mém. sur le sang (1859), p. 171. — 3) F. HOPPE-SEYLER, Med.chem. Untersuch. (1867), p. 219. Handb. d. physiol. Chem., 4. Aufl., p. 228. — 4) H. RITTHAUSEN, Die Eiweißkörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte u. Ölsamen. Bonn 1872. Dort die Zusammenstellung aller früheren Untersuchungen; Pflüg. Arch., *19*, 15 (1879). Journ. prakt. Chem., *29*, 360, 448 (1884). — 5) A. SCHMIDT, Über Emulsin u. Legumin. Tübingen 1871. — 6) O. MASCHKE, Botan. Ztg. (1859), p. 409. Journ. prakt. Chem., *74*, 436 (1858). — 7) SACHSSE, Sitz.ber. Nat.forsch. Ges. Leipzig (1876). — 8) TH. WEYL, Ztsch. physiol. Chem., *1*, 72 (1877). — 9) W. PALLADIN, Ztsch. Biol. (1895), p. 191.

körner sind Reserven, dazu bestimmt, der Resorption zur Deckung des Eiweißbedarfes bei der Keimung anheimzufallen. Bei vorgeschrittener Entleerung des Nährgewebes dürfte wohl auch die protoplasmatische Grundsubstanz der Zellen der Auflösung überantwortet werden und Material für die Ernährung des jungen Embryos liefern, wie z. B. bei der Keimung der Gräser.

Die Proteinkörner wurden 1855 durch Th. Hartig (1) entdeckt, der sie als „Klebermehl", „Aleuron" bezeichnete und auch bereits die Eiweißkrystalle und Globoide in ihrem Inhalte kannte. Radlkofer (2) verglich die Eiweißkrystalle der Proteinkörner sehr treffend mit den krystallinischen Dotterplättchen mancher Tiere. Daß die Substanz der Proteinkörner ausschließlich aus Reserveproteinen besteht, war wegen der leichten Zerstörbarkeit dieser Gebilde von den älteren Botanikern noch nicht erkannt worden (3). Erst Pfeffer (4) zeigte, daß die Proteinkörner nur Eiweißstoffe, kein Fett enthalten, und am besten als Eiweißvacuolen aufgefaßt werden, in deren Inneren sich Eiweißkrystalle, sowie die nach der noch immer herrschenden Auffassung aus einem organischen mit Ca und Mg gepaarten Phosphat bestehenden kugeligen „Globoide" abgeschieden haben. Die Proteinkörner zeigen sehr große, oft für Spezies und Gruppen charakteristische Differenzen bezüglich Größe, Gestalt, der Einschlüsse usw. (5). Über die Eiweißkrystalle verdanken wir vor allem Schimper (6) eingehende Studien. In neuerer Zeit hat sich Wakker (7) mit der Entwicklung der Proteinkörner befaßt und nachgewiesen, daß dieselben sicher als Zellsaftvacuolen auftreten. Zu demselben Ergebnis kamen Guilliermond (8) und Beauverie (9), unter Heranziehung des Studiums der Entwicklung der Aleuronkörner während der Samenreife und ihrer Lösung bei der Keimung. Nach Thompson (10) erhält man den natürlichen Aleuronkörnern sehr ähnliche Gebilde, wenn man den krystallisierten Niederschlag aus Bertholletia-Edestin der Dialyse unterwirft. Offenbar handelt es sich auch hier um Vacuolisierung. Die Hautschichte der Proteinkörner ist nach Pfeffer von der Innensubstanz verschieden und gegen Laugen meist resistent. Außer den durch Pfeffer in den Globoiden gefundenen Stoffen konnte Gram (11) bei Ricinus noch Bernsteinsäure nachweisen; die Umbelliferenproteinkörner enthalten neben Phosphat noch äpfelsaures Magnesium und

---

1) Th. Hartig, Botan. Ztg. (1855), p. 881; (1856), p. 257; (1858), p. 108. — 2) Radlkofer, Über Krystalle proteinartiger Körper (1859); ferner Holle, Neu. Jahrb. Pharm. v. Walz u. Winkler, *10*, 1 (1858); *11*, 338 (1859); Trécul, Ann. Sci. Nat. (4), *10*, 20 (1858). — 3) Vgl. J. Sachs, Lehrb. d. Botan., 1. Aufl., p. 53 (1868). — 4) W. Pfeffer, Jahrb. wiss. Botan., *8*, 429 (1872). — 5) Vgl. Tschirch, Angewandt. Pfl.anat. (1889), p. 41. Lüdtke, Ber. pharm. Ges., *1*, 53 (1891). Dufour, Diss. Zürich (1892). O. Tunmann, Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913, p. 485. H. Molisch, Mikrochemie d. Pfl. Jena 1913, p. 334. Gräser: P. Groom, Ann. of Bot., *7*, 387 (1893). A. Guilliermond, Compt. rend., *145*, 768 (1907). — 6) Schimper, Unters. über die Proteinkrystalle. Diss. Straßburg (1878). — 7) J. H. Wakker, Jahrb. wiss. Botan., *19*, 453 (1888); Botan. Zentr., *33*, 361 (1888). F. Werminski, Ber. bot. Ges., *6*, 199 (1888). F. Lüdtke, Ebenda, *7*, 282 (1889). Jahrb. wiss. Bot., *21*, 62 (1889). Godfrin, Ann. Sci. Nat. (6), *19*, 5 (1884). 'Präparation' der Aleuronkörner: Poulsen, Rev. gén. Botan., *2*, 547 (1890). P. Groom, l. c. Abweichende Angaben bei Belzung, Journ. de Botan., *5*, 85 (1891). Rendle, Ann. of Bot., *2*, 161 (1888). — 8) A. Guilliermond, Compt. rend., *145*, 768 (1907). Arch. d'Anatom. Microsc., *10*, Heft 2 (1908). — 9) J. Beauverie, Compt. rend., 9. April 1906; *145*, 1345 (1907). Soc. Biol., *61*, 376, 556 (1906). Ann. Sci. Nat. (9), *8*, 147 (1908). — 10) W. P. Thompson, Botan. Gaz., *54*, 336 (1912). — Quellungserscheinungen: H. Joffrin, Rev. gén. Botan., *18*, 327 (1906). — 11) B. Gram, Justs Jahresb. (1901), II, 373; Landw. Vers.stat., *57*, 257 (1903).

Calcium. Nach BEAUVERIE beobachtet man auch Globoide nicht als Einschlüsse der Aleuronkörner. Die Globoide verhalten sich gegen Farbstoffe nach diesem Forscher sowie nach GUILLIERMOND so wie Volutin metachromatisch (**1**). Mit Anthocyanin rot oder blau gefärbte Aleuronkörner sind besonders bei Gräsern (Mais) beobachtet (**2**). Verschiedene Angaben über grün gefärbte Aleuronkörner scheinen sich durch Speicherung von Chlorophyll erklären zu lassen, das destruierten Chloroplasten der Präparate entstammt (**3**).

Die in verschiedenen Pflanzenorganen vereinzelt durch MOLISCH, WAKKER, MIKOSCH nachgewiesenen „geformten Eiweißkörper", „Rhabdoide" usw. dürften mit Proteinkörnern und Reserveprotein kaum etwas zu tun haben (**4**).

Nachdem es gelungen war, die den Eiweißkrystallen der Aleuronkörner zugrundeliegende Substanz auch außerhalb der Zellen in Krystallen zu gewinnen (**5**), versuchte VINES (**6**) sich über die Verteilung der in den Proteinkörnern vorhandenen Eiweißstoffe eine Vorstellung zu bilden. Er nahm an, daß das Krystalloid aus Vitellin, die Grundsubstanz der Körner aus Hemialbumose und Myosin bestehe. Bei der Untersuchung der Samen von Abrus precatorius kam MARTIN (**7**) zu dem Schlusse, daß hier „Paraglobulin" und Albumosen vorliegen. Doch hat schon PALLADIN betont, daß manche Reaktionen des Vitellins jenen von Albumosen ähnlich ausfallen. Sodann gaben VINES und GREEN (**8**) ein dem Serumalbumin ähnliches Pflanzenalbumin an. In der Folge haben besonders die eingehenden Untersuchungen von TSCHIRCH und KRITZLER (**9**) erwiesen, daß globulinähnliche Eiweißstoffe den Hauptanteil an der Zusammensetzung der Proteinkörner nehmen; in 19—20% NaCl sind die Körner samt Krystallen und Globoiden vollständig löslich. In konzentrierter Lösung von Ammoniumsulfat lösen sich nur die Globoide, nicht aber Krystalle und Grundsubstanz, während in konzentriertem Magnesiumsulfat Krystalle wie Globoide unlöslich sind. Nach TSCHIRCH und KRITZLER bestehen die Eiweißkrystalle aus mindestens zwei differenten, aber sehr nahe verwandten globulinartigen Proteinen. Auch die Globoide enthalten Globulin, welches durch Bindung an Ca und Mg andere Eigenschaften angenommen hat.

Am wesentlichsten haben zur Kenntnis der Reserveproteide aus Samen in neuerer Zeit die zahlreichen Arbeiten von OSBORNE (**10**) bei-

---

1) Vgl. hingegen: J. CHIFFLOT u. J. KIMPFLIN, Assoc. Avanc. Sci. (1907), p. 534. — **2**) KRAUSE, Chem. Zentr. (1893), I, 50; TH. WAAGE, Ebenda, 611. K. v. SPIESS, Österr. bot. Ztsch. (1904), Nr 12. J. VISKI, Botan. Közlem, *12*, 169 (1913). Bot. Zentr., *123*, 660 für Lolium. multiflorum. — **3**) Für Keimblattstiel von Vicia: G. v. BECK, Wien. Ak., 9. Mai 1878; Bot. Ztg. (1878), p. 442. Grüne Aleuronkörner von Samen: Pistacia, Acer, Evonymus: v. SPIESS, l. c. G. LOPRIORE, Ber. bot. Ges., *22*, 393 (1904). — **4**) MOLISCH, Ebenda, *3*, 195 (1885) für Epiphyllum; CHMIELEWSKY, Botan. Zentr. (1887), 117; WAKKER, Justs bot. Jahresber. (1889), I, 596 (Tecophilea, Knollen). C. MIKOSCH, Ber. bot. Ges., *8*, 33 (1890) (Oncidium, Blätter). — **5**) DRECHSEL, Journ. prakt. Chem. (2), *19*, 331 (1879). GRÜBLER, Ebenda, *23*, 97 (1881); RITTHAUSEN, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 566 (1882) gab für das Klebermehl der Samen von Aleurites 73,11% Eiweiß und 11,39% Asche an. — **6**) FOSTER, Proc. Roy. Soc. (1878), Nr. 191. S. H. VINES, Ebenda u. (1880), Nr. 204, p. 387. Journ. of Physiol., *3*, Nr. 2 (1881). — **7**) MARTIN, Ebenda, *6*, 336; Proc. Roy. Soc., *42*, 331 (1887). — **8**) VINES u. GREEN, Ebenda, *52*, 130 (1893); GREEN, *40*, 28 (1886). — **9**) A. TSCHIRCH u. H. KRITZLER, Ber. pharm. Ges., *10*, Heft 6 (1900). KRITZLER, Mikrochem. Unters. über die Aleuronkörner. Bonn 1900. O. TUNMANN, Pharm. Zentr. Halle, *50*, 525 (1909). — **10**) THO. B. OSBORNE, Ergebn. d. Physiol., *10*, 47 (1910). ABDERHALDEN, Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 270 (1909).

getragen, durch welche bestätigt wurde, daß die Hauptmasse der Samenproteide aus globulinartigen Körpern besteht, wozu noch weniger verbreitet und spärlicher vorkommend Albumine treten, ferner die auf Gräser beschränkten alkohollöslichen Eiweißstoffe des Klebers, die man über Vorschlag OSBORNEs als Prolamine bezeichnet, schließlich die Gluteline, deren Vertreter das Glutenin aus Weizen darstellt.

1., Albumine. — Der von OSBORNE als Leucosin bezeichnete albuminartige Eiweißstoff bildet etwa 0,4% des Weizenkorns, aber 10% des Embryos, weshalb die Substanz nicht zu den typischen Proteiden des Nährgewebes gezählt werden kann (1). Es koaguliert bei etwa 52°, ist durch Sättigung mit NaCl oder $MgSO_4$ aus der wässerigen Lösung fällbar und liefert bei der Spaltung über 11% an Leucin. Die Analyse ergab 53,02% C, 16,8% N, 1,28% S. Das Legumelin (2) ist ein in verschiedenen Leguminosensamen, wie Pisum, Lens, Vicia, Vigna, Glycine, in der Menge von etwa 1,5%, oder auch etwas mehr, vorhandenes Albumin von ähnlichen Eigenschaften wie Leucosin. Die Hydrolyse liefert hier mehr Glutaminsäure als Leucin. Bei Phaseolus vulgaris wird es durch das noch näher zu untersuchende Phaselin vertreten. Im Ricinussamen fand OSBORNE (3) das albuminartige Ricin, gleichfalls in einer Ausbeute von etwa 1,5% des entfetteten Materials. Er meint, daß dieser Stoff wahrscheinlich der Träger der toxischen Eigenschaften sei.

2., Globuline. — Die Hauptproteide der Samennährgewebe sind unstreitig die von OSBORNE als Globuline bezeichneten Stoffe, die früher WEYL als Phytovitelline benannt hatte. Unstreitig sind diese Stoffe den tierischen Globulinen durch ihre Eigenschaften, vor allem durch ihre Löslichkeitsverhältnisse, sehr ähnlich. Doch unterscheiden sie sich durch die Krystallisationsfähigkeit und die häufig deutlich ausgesprochene basische Natur von jenen so scharf, daß man Bedenken tragen kann, den Namen Globulin schlechthin für die Samenproteide zu gebrauchen. Die in neuerer Zeit wiederholt aufgetauchte Meinung, daß es sich in den Samenglobulinen um phosphorhaltige Stoffe, analog den tierischen Vitellinen und Caseinen handle (4), hat sich nach OSBORNE in keiner Weise bestätigen lassen (5). Man kennt derzeit schon eine sehr bedeutende Zahl verschiedener Samenglobuline, die einander zum großen Teile sehr ähnlich sind. So ist das Edestin aus Hanfsamen der Typus einer ganzen Gruppe von Reserveproteinen aus verschiedenen Samen, die man früher mit dem Cannabisproteid für identisch angesehen hatte, jetzt aber wieder trennt. Edestin, durch seine große Krystallisationsfähigkeit ausgezeichnet, koaguliert in seiner Lösung in 10% NaCl erst bei Temperaturen nahe an 100°, ist wohl durch Alkalisulfate, aber nicht durch Natriumchlorid aussalzbar (6).

The vegetable Proteins, London 1909; ABDERHALDEN, Biochem. Handlexikon, Bd. IV, p. 1 (1910); OSBORNE, A Collection of Papers on Proteid Constituents of Several Seeds. New Haven Conn. (1890—1901). Biochem. Handlexikon, *9*, 1 (1915). E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *73*, 35 (1910); O. ROSENHEIM, Sci. Progr., *2*, 676 (1908).

1) Leucosin: TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Amer. Journ. Physiol., *17*, 223 (1906); OSBORNE, The Proteins of the Wheat Kernel. Washington (1907), Carnegie-Istitut. A. J. VANDEVELDE u. L. BOSMANS, Bull. Soc. Chim. Belg., *27*, 28 (1913). — 2) Legumelin: TH. B. OSBORNE u. HARRIS, Journ. of Biol. Chem., *3*, 213 (1907). — 3) Ricin: OSBORNE, MENDEL u. HARRIS, Amer. Journ. Physiol., *14*, 259 (1905). — 4) WIMAN, Malys Jahresber. Tierchem., *27*, 21 (1897). K. WEISS, Botan. Zentr., *87*, 13 (1901). — 5) OSBORNE, Ztsch. physiol. Chem., *36*, 130 (1902). Extraktion der Globuline mit Natriumbenzoat 7%: G. REEVES, Biochem. Journ., *9*, 508 (1915). — 6) Salzlöslichkeit: OSBORNE u. HARRIS, Amer. Journ. of Physiol., *14*, 151 (1905); Fällungsgrenzen: Journ. Am. Chem. Soc., *25*, 837.

Die Hydrolyse liefert besonders viel Leucin, Glutaminsäure und Arginin. In den krystallisierten Salzfällungspräparaten des Edestins dürfte es sich nach Osborne um Säureverbindungen dieses basischen Eiweißstoffes handeln. Entfettetes Cannabissamenmehl lieferte etwa 13% Edestin. Die in ihren physikalischen Eigenschaften dem Edestin äußerst ähnlichen Proteide aus den Samen von Cocos nucifera (1), Ricinus communis (Winterstein (2) stellte daraus ein eigentümliches, dem Lysin ähnliches, doch davon verschiedenes Spaltungsprodukt her), Cucurbita (Ausbeute 54% des entölten Samens), Linum usitatissimum (Ausbeute an Globulin 16,8% des entfetteten Materials), Helianthus annuus (3), ferner Gossypium (4), sodann die in Mengen von 0,7 bis 1,5% in den Getreidesamen enthaltenen Globuline, darunter auch das Avenalin aus Avena sativa, scheinen sich alle durch eine andere Zusammensetzung des Aminosäurengemisches bei der Totalhydrolyse vom Cannabis-Edestin zu unterscheiden.

Gut bekannt sind sodann die Reserveproteide der Leguminosensamen. Das Phaseolin, zu 20% aus den Samen von Phaseolus multiflorus zu erhalten (5), ist aus seiner Lösung in 10% NaCl durch viel Wasser fällbar, in Wasser unlöslich, aussalzbar durch Ammoniumsulfat, nicht aber mit NaCl oder $MgSO_4$, koaguliert bei 95°. Das zuerst von Braconnot und von Loewenberg (6) studierte Legumin bildet etwa die Hälfte aller Eiweißsubstanzen der Samen von Vicia, Lens und Pisum. Auch in Cicer arietinum ist es enthalten (7). Es löst sich leicht in mehr als 5% NaCl, kann aus seiner Lösung mit NaCl oder $MgSO_4$ nicht gefällt werden, gibt eine allmählig karminrot werdende Biuretprobe. Bei der Hydrolyse erhält man sehr viel Glutaminsäure und Arginin. In Faba, Lens und Pisum wird das Legumin von einem zweiten ähnlichen Stoff, dem Vicilin, begleitet, von welchem es sich schwer trennen läßt. Unterschieden wurde sodann vom Legumin auch das Hauptproteid des Samens von Glycine hispida, das Glycinin, ferner das Vignin aus Vigna sinensis (8). Unter dem Namen Conglutin wurden, wie Osborne (9) nachgewiesen hat, früher sehr verschiedene Proteide zusammengefaßt. Die Benennung wurde für die beiden nahe verwandten charakteristischen Globuline aus den Samen von Lupinus luteus und angustifolius beibehalten (10). Bei der Hydrolyse erhält man aus Conglutin sehr viel Glutaminsäure. Die Proteine der Arachis hypogaea, das Arachin und Conarachin (11) enthalten sehr viel Lysin. Conarachin hat am meisten basischen N

---

1) Johns, Finks u. Gersdorff, Journ. Biol. Chem., *37*, 149 (1919). — 2) E. Winterstein, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 69 (1905). Ricinusproteid: Osborne, Mendel u. Harris, l. c. — 3) Osborne u. Campbell, Journ. Amer. Chem. Soc., *19*, 487 (1897). Hydrolyse: Abderhalden u. Reinbold, Ztsch. physiol. Chem., *44*, 284 (1903). — 4) Osborne u. Vorhees, Journ. Amer. Chem. Soc., *16*, 778 (1894). Hydrolyse: E. Abderhalden u. O. Rostoski, Ztsch. physiol. Chem., *44*, 265 (1905). — 5) 1884 entdeckt von Ritthausen; Osborne, Chem. Zentr. (1894), II, 875 u. 1049. — 6) P. Loewenberg, Pogg. Ann., *78*, 327 (1849). Über Ritthausens a- und b-Legumin: O. Hammarsten, Ztsch. physiol. Chem., *102*, 85, 105 (1918). — 7) M. Fornaini, Ann. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), *5*, 199 (1912). Analyse: Zlataroff, Ztsch. Unt. Nahr., *31*, 180 (1916). — 8) Glycinin: E. Meissl u. Böcker, Monatsh. Chem., *4*, 349 (1883). Osborne, Chem. Zentr. (1898), II, 363. Osborne u. Clapp, Ztsch. analyt. Ch., *48*, 623 (1909). Vignin: Osborne u. Campbell, Journ. Amer. Chem. Soc., *19*, 494 (1897). — 9) Osborne u. Campbell, Ebenda, *18*, 609; Chem. Zentr. (1896), II, 436. — 10) Osborne u. Campbell, Journ. Amer. Chem. Soc., *19*, 454 (1897). Campani u. Grimaldi, Chem. Zentr. (1888), II, 1550. Conglutin, Hydrolyse: E. Winterstein u. Pantanelli, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 61 (1905); Abderhalden u. Herrick, Ebenda, p. 479. Phasin aus blauer Lupine: Muenk, Landw. Vers.stat., *85*, 393 (1914). — 11) Johns u. Jones, Journ. Biol.

von allen bisher bekannten Pflanzenglobulinen. Analoge Körper sind die beiden Proteide der Canavalia ensiformis, das Canavalin und Concanavalin (1), sowie das Stizolobin aus Stizolobium niveum (2).

Das früher als Conglutin geführte Globulin aus dem Samen der Prunaceen: Amygdalus und Persica, ist eine ganz verschiedene Substanz, für welche OSBORNE und CAMPBELL die alte PROUSTsche Bezeichnung „Amandin" beibehalten haben (3). Das Globulin der Paranuß, Bertholletia excelsa, das man nach OSBORNE als Excelsin unterscheidet, war das zuerst bekannte künstlich krystallisierbare Samenproteid. Man erhält 22 % des entfetteten Samenmehles an krystallisiertem Eiweiß. Früher als Magnesiumverbindung erklärt, werden diese Krystalle jetzt von OSBORNE als Säureverbindung des nativen Globulins angesehen. Als Corylin führen OSBORNE und HARRIS (4) das Reserveproteid von Corylus Avellana, mit welchem die als Juglansin unterschiedenen Proteide der Juglans- und Carya-Arten (5) die größte Ähnlichkeit haben und sich nur durch ihren geringeren Gehalt an Ammoniak-N davon abtrennen lassen. Auch das Castanin von Castanea vesca ist nach BARLOW (6) dem Corylin sehr ähnlich. Das Buchweizenglobulin liefert nach JOHNS (7) viel Lysin.

Näherer Untersuchung bedürftig sind die Globuline der Coniferensamen, welche alle bei der Hydrolyse sehr viel Arginin ergeben (8). Aus demselben Grunde kann auf die Angaben bezüglich der Samenproteide von Aleurites (9), Croton Tiglium (10), Johannesia princeps Vell. (11), Manihot Glaziowii (12), Carica Papaya und Nephelium (13) nicht eingegangen werden.

TSCHIRCH und KRITZLER versuchten die von OSBORNE festgestellten Charaktere der einzelnen Samenproteide mikrochemisch zu verwerten und fanden, daß man Excelsin und Amandin durch ihre Löslichkeitsverhältnisse auch mikroskopisch gut unterscheiden kann. Das Proteid der Foeniculumsamen unterschied sich hingegen nicht vom Edestin. Erwähnt sei noch, daß bei den Aleuronkörnern die Löslichkeit in Salzlösungen abnimmt, wenn die Samen mehrere Jahre lang aufbewahrt werden. Dies war sehr ausgeprägt bei Myristica surinamensis der Fall. Möglicherweise stehen derartige Veränderungen wenigstens teilweise mit dem Verluste der Keimfähigkeit alter Samen in Beziehung (14).

Chem., *28*, 77 (1916); *30*, 33 (1917); *36*, 491 (1918). M. SOAVE, Ann. Accad. Agric. Torino, *48* (1905).

1) JONES u. JOHNS, Journ. Biol. Chem., *28*, 67 (1916); SUMNER, Ebenda, *37*, 137 (1919). Analyse bei BARNSTEIN, Landw. Vers.stat., *85*, 113 (1914). — 2) JOHNS u. FINKS, Journ. Biol. Chem., *34*, 429 (1918). Über Trigonella foenum graecum: WUNSCHENDORFF, Journ. Pharm. et Chim. (7), *20*, 86 (1919). — 3) Vgl. auch BOULLAY, Ann. Chim. et Phys. (2), *6*, 406 (1817) — 4) OSBORNE u. HARRIS, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 848 (1903). Analyse: RUBNER, Arch. Anat. u. Phys., 1915, p. 240. — 5) TH. B. OSBORNE u. HARRIS, l. c. GEO. O. PETERSON u. E. H. S. BAILEY, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 739 (1913). — 6) W. E. BARLOW, Journ. Amer. Chem. Soc., *27*, 274 (1905). Nichtkrystall. Globulin der Samen von Acer saccharinum: R. J. ANDERSON, Journ. Biol. Chem., *34*, 509 (1918). — 7) JOHNS u. CHERNOFF, Journ. Biol. Chem., *34*, 439 (1918). — 8) Picea: E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 276 (1898); *25*, 360 (1898). Pinus sylvestris: ABDERHALDEN u. TERUUCHI, Ebenda, *45*, 473 (1905). Pinus koraiensis: K. YOSHIMURA, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, *19*, 257 (1910). — 9) RITTHAUSEN, l. c. A. R. THOMPSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 644 (1913). — 10) E. WINTERSTEIN u. M. A. JEGOROW, Landw. Vers.stat., *79/80*, 535 (1913) (Hydrolyse). — 11) TH. PECKOLDT, Ber. pharm. Ges., *15*, 183 (1906). — 12) PECKOLT, Ebenda, *16*, 22 (1906). — 13) D. HOOPER, Pharm. Journ. (4), *37*, 369 (1913). Samen von Carica 24,3% Eiweiß. Nephelium langana Camb. 6,25%. — 14) Vgl. auch O. TUNMANN, Pharm. Zentr. Hall., *50*, 525 (1909).

Die alkohollöslichen Prolamine sind der Hauptbestandteil des Klebers der Gramineensamen. Schon die älteren Forscher wußten, daß der Kleber, den sie aber mehrfach von anderen pflanzlichen Proteinen nicht unterschieden, partiell in Alkohol löslich sei (1). Analysen der Kleberproteine lieferten MULDER, BOUSSINGAULT u. a. Forscher (2). TADDEI (3) nannte den in Alkohol löslichen Anteil „Gliadin" oder Pflanzenleim, den Rückstand „Zymom". DUMAS und CAHOURS bezeichneten eine dritte Fraktion, welche sich aus dem Extrakte mit heißem verdünnten Alkohol beim Erkalten abscheidet, als „Casein".

RITTHAUSEN unterschied später vier Fraktionen des Klebers als Gliadin (Pflanzenleim), Glutenfibrin, Glutencasein und Mucedin. Das Glutencasein RITTHAUSENS ist identisch mit TADDEIS Zymom, LIEBIGS Pflanzenfibrin und BERZELIUS' unlöslichem Pflanzenalbumin, und bleibt bei Behandlung des Klebers mit kaltem verdünnten Weingeist ungelöst zurück. RITTHAUSEN gab selbst die variable Zusammensetzung dieser Präparate zu. Außerdem schließt der Kleber ansehnliche Mengen von Nichteiweiß ein (4). Gegenüber der von MORISHIMA und SCHMIEDEBERG (5) geäußerten Ansicht, daß der gesamte Kleber nur aus einer einzigen Eiweißsubstanz, dem „Artolin", bestehe, werden wir mit guten Gründen an der von TADDEI begründeten Scheidung der alkohollöslichen und unlöslichen Proteide festhalten. KOSSEL und KUTSCHER (6) haben darauf aufmerksam gemacht, daß Lysin nur bei der Hydrolyse der alkoholunlöslichen Fraktion erhalten wird, während die alkohollöslichen Anteile kein Lysin ergeben. Eine andere Frage ist es, ob die beiden Kleberfraktionen schon im Samen präexistieren, oder ob bei der Behandlung des Mehles mit Wasser eine fermentative Spaltung des nativen Klebers eintritt. Diese Frage ist von WEYL und BISCHOFF (7) tatsächlich aufgeworfen worden. Auch KJELDAHL und MARTIN schlossen sich solchen Auffassungen an, wogegen JOHANNSEN, O'BRIEN, BALLAND (8) die Meinung vertraten, daß beide Fraktionen schon a priori vorhanden sind. So ist die Frage der Kleber bildenden Substanz noch ungelöst. Durch die Versuche von OSBORNE und VORHEES ist gezeigt worden, daß ein vom alkohollöslichen Gliadin befreites Mehl keinen Kleber mehr zu bilden vermag; andererseits bildete auch Gliadin, mit Maisstärke gemischt, keinen kleberhaltigen Teig. Daher sind beide Kleberbestandteile irgendwie zur Teigbildung nötig (9). Setzt man Mehl Gliadin zu, so wird ein viel zäherer Teig als sonst erhalten,

---

Kritik bei G. LAKON, Naturwiss. Ztsch. Forst- u. Landw., *9*, 285 (1911). Mikr. Unters. von Getreidekörnern aus altägypt. Gräbern: E. GAIN, Compt. rend., *132*, 1248 (1901). C. BRAHM u. J. BUCHWALD, Ztsch. Unters. Nahr. Gen.mittel, *7*, 12 (1904). Grenzen der Keimfähigkeit von Grassamen: A. BURGERSTEIN, Zool. Bot. Ges. Wien., *51*, 645 (1902).

1) Ältere Literatur über Kleber: CANDOLLE, Physiologie, *1*, 301; TREVIRANUS, Physiologie, *2*, 39; CADET, Ann. de Chim., *41*, 315 (1802); PROUST gab den Kleber von verschiedenen Samen, Früchten und Blättern an; FABRONI unterschied ihn nicht einmal von Hefe (vgl. DAVY, Agric. Chem. (1814), p. 95 u. 148). Histor. Daten ferner bei M. O'BRIEN, Ann. of Botan., *9*, 172 (1895). RITTHAUSEN, Eiweißkörper (1872), p. 1. — 2) BOUSSINGAULT, Ann. de Chim. et Phys. (2), *65*, 301 (1837). MULDER, Berzelius Jahresber., *25*, 577 (1846). — 3) TADDEI, Schweigg. Journ., *29*, 514. — 4) J. S. CHAMBERLAIN, Journ. Am. Chem. Soc., *28*, 1657 (1906) gibt 25% Nichtprotein an. — 5) MORISHIMA, Arch. exp. Pathol., *41*, 345 (1898). H. HAYASHI, Ebenda, *52*, 289 (1905). — 6) KOSSEL u. KUTSCHER, Ztsch. physiol. Chem., *31*, 212 (1900). — 7) TH. WEYL u. BISCHOFF, Ber. chem. Ges., *13*, 367 (1880). — 8) W. JOHANNSEN, Chem. Zentr. (1888), II, 1369; Botan. Zentr., *39*, 22 (1889); Compt. rend. Carlsberg, *2*, 199 (1888). BALLAND, Compt. rend., *116*, 202 (1893). — 9) Vgl. auch B. v. FENYVESSY, Ztsch. Nahr. Gen.mittel, *21*, 658 (1911).

und man kann das zugesetzte Gliadin wieder vollständig im Kleber auffinden. An den Weizenkleber knüpfen sich auch die später für die Eiweißchemie wichtig gewordenen Versuche von WOOD und HARDY (1) über die Bildung von kolloiden Lösungen durch den Einfluß sehr verdünnter Säuren und Alkalien, welche durch die Bildung von Eiweiß-Ionen erklärt wurde. Zusatz von Salzen hemmt diese Wirkung, nach der Annahme HARDYS durch Zurückdrängung der Ioneneiweißbildung.

Gegenüber der Ansicht RITTHAUSENS, daß die alkohollösliche Kleberfraktion aus mehreren Eiweißkörpern bestehe, haben einige neuere Forscher, wie GÜNSBERG, MARTIN und OSBORNE (2), auf die TADDEIsche Auffassung zurückgegriffen, daß nur ein einziges alkohollösliches Proteid im Weizenkleber vorhanden sei, welchem der Name Gliadin zu verbleiben hätte. O'BRIEN, in gewissem Sinne auch KUTSCHER, schließen sich hingegen der Ansicht RITTHAUSENS an (3). Das Glutenfibrin, Mucedin und Gliadin RITTHAUSENS sind nur durch die verschiedene Löslichkeit in kaltem 60%igen Alkohol unterschieden worden. KUTSCHER (4) meint das Glutenfibrin außerdem durch seinen großen Gehalt an Tyrosingruppen und den geringeren Gehalt an Glutaminsäure charakterisieren zu können, während Gliadin und Mucedin auch nach KUTSCHERS Ansicht als einheitliches Proteid aufzufassen wären. Das Gliadin aus Weizen ist oft der Totalhydrolyse unterworfen worden (5), wobei sich besonders der hohe Gehalt an Glutaminsäure (37,33%) und an Prolin (7,06%) als bemerkenswert ergaben. Lysin ist, wie erwähnt, darin nicht nachzuweisen gewesen. Zur quantitativen Bestimmung des Gliadins, die in praktischer Hinsicht wichtig ist (6), geht man am besten so vor, daß der im koagulablen Teil des Alkoholextraktes enthaltene Stickstoff bestimmt wird (durch die Differenz zwischen Gesamt-N und dem im Filtrat enthaltenen N), oder man benutzt die polarimetrische Methode.

Das im Roggen enthaltene Prolamin ist zwar dem Weizengliadin sehr ähnlich, doch ist nach OSBORNE spezifische Drehung und das Mengenverhältnis der Hydrolysenprodukte so konstant verschieden, daß man besser tut, das Roggenprolamin als vom Gliadin verschieden anzusehen (7). Das Prolamin der Gerste ist schon durch seine große Löslichkeit in Wasser und Neutralsalzlösungen vom Gliadin different und wird als Hordein bezeichnet (8). Hinsichtlich des Prolamins aus Avena, welches bisher nur

---

1) T. B. WOOD u. W. B. HARDY, Koll.Ztsch., *4*, 213 (1909). Kolloide Quellung von Weizengluten: UPSON u. CALVIN, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1295 (1915). — 2) GÜNSBERG, Journ. prakt. Chem., *85*, 213; OSBORNE u. HARRIS, Amer. Journ. Physiol, *13*, 35 (1905). GRÖH u. FRIEDL, Biochem. Ztsch., *66*, 154 (1914)). MARCHADIER u. GOUJOU, Journ. Pharm. et Chim. (7), *10*, 191 (1914). — 3) M. O'BRIEN, Ann. of Botan., *9*, 172 (1895). — 4) KUTSCHER, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 133 (1903). — 5) KUTSCHER, l. c. E. ABDERHALDEN u. F. SAMUELY, Ebenda, *44*, 276 (1905). P. BERGELL, Chem. Zentr. (1905), II, 1103. TH. B. OSBORNE u. S. H. CLAPP, Amer. Journ. Physiol., *17*, 231 (1906). Ztsch. analyt. Chem., *47*, 81 (1907); OSBORNE u. H. GUEST, Journ. Biol. Chem., *9*, 425 (1911); OSBORNE u. CH. S. LEAVENWORTH, Ebenda, *14*, 481 (1913). OSBORNE, SLYKE u. LEAVENWORTH, Ebenda, *22*, 259 (1915). Veränderungen des Klebers bei Oxydationen: JELINEK u. SPOUSTA, Ztsch. Getreidewes., *8*, 113 (1918). — 6) Lit. GEO. A. OLSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 917 (1913); R. HOAGLAND, Ebenda (1911), p. 838; J. E. GREAVES, Univ. Californ. Publ. Physiol., *4*, 31 (1911); Journ. biol. Chem., *9*, 271 (1911). W. E. MATHEWSON, Journ. Am. Chem. Soc., *30*, 74 (1908). BAILEY u. BLISH, Journ. Biol. Chem., *23*, 345 (1915). OLSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 211 (1914). — 7) Kolloidchemisch stimmen beide Stoffe nach LÜERS, Koll. Ztsch., *25*, 230 (1919) völlig überein. — 8) Hordein: LINDET u. L. AMMANN, Compt. rend., *145*, 253 (1907); H. SCHJERNING, Compt. rend. Carlsberg, *9*, 237 (1913). LAKE, OSBORNE u. WELLS, Journ. Infect. Diseas., *14*, 364

von OSBORNE studiert worden ist, liegen noch nicht abgeschlossene Untersuchungen vor. Hingegen ist das Prolamin aus Zea Mays, das in warmem 80—90%igem Alkohol lösliche Zein, genauer bekannt. Die Unterscheidung stammt schon von GORHAM [1821] (1). Nach SOAVE bildet Zein im Maisendosperm etwa 1/3 des Gesamt-N und 36,6% des Eiweiß-N. Bei der Keimung tritt es in kleiner Menge auch im Embryo auf. Bemerkenswert ist, daß man aus Zein bei der Hydrolyse weder Lysin noch Tryptophan erhält, und das Zein infolgedessen nicht imstande ist für sich allein höheren Tieren als Stickstoffquelle zu dienen. Als Maysin haben DONARD und LABBÉ (2) ebenfalls alkohollösliche Proteide aus Mais beschrieben, die sie durch Amylalkoholextraktion gewannen. Doch ist es zweifelhaft inwieweit es sich hier um präexistierende Eiweißstoffe handelt. Als Maysin hat übrigens OSBORNE auch einen globulinartigen Eiweißstoff aus Zea Mays beschrieben. Dem Zein ähnlich ist das alkohollösliche Proteid von Andropogon Sorghum, von JOHNS (3) Kafirin genannt. Es macht hier über die Hälfte des Gesamtproteingehaltes aus. Auch in Oryza sativa ist ein alkohollösliches Proteid nachgewiesen (4).

4. Den in Alkohol unlöslichen Anteil des Klebers bilden die von OSBORNE so benannten Gluteline, von denen das Weizenglutenin der bekannteste Vertreter ist. Dieser Stoff ist identisch mit TADDEIS Zymom und dem sogenannten Glutencasein neuerer Autoren. Charakteristisch ist die Unlöslichkeit in Wasser und Neutralsalzlösungen und die Löslichkeit in sehr verdünntem Alkali. Es ist im Kleber etwa in der gleichen Menge vorhanden wie das Prolamin. Die Hydrolyse ergibt sehr viel Glutaminsäure und Gegenwart von Lysin und Tryptophan. Auch im Mais ist ein analoger Stoff nachgewiesen, und bei Oryza wird anscheinend die größte Menge des Gesamteiweiß von dem alkalilöslichen Oryzenin gebildet (5). Bezüglich des Eiweiß aus Glyceria fluitans fehlen einschlägige Angaben (6).

Die Aleuronzellen der Gramineensamen werden übrigens, wie A. MEYER (7) und JOHANNSEN besonders nachgewiesen haben, nur fälschlich „Kleberzellen“ genannt, nachdem keine Spur von Kleberproteiden in ihnen enthalten ist, und die letzteren nur im Mehlendosperm vorkommen.

Hingegen sind wohl diese Zellen der Sitz jener Bestandteile der Reiskleie, welche man auf Grund neuerer Erfahrungen bei ausschließlicher Ernährung durch Reis zur Hintanhaltung der als Beri-Beri bezeichneten polyneuritischen Erkrankung für unentbehrlich hält (8). FUNK, der sich

---

(1914). SCHJERNING, Compt. rend. Carlsberg, *11*, 45 (1914). LÜERS, Biochem. Ztsch., *96*, 117 (1919).

1) Zein: R. H. CHITTENDEN u. OSBORNE, Ber. chem. Ges., *25*, 92 u. 436 (1892); OSBORNE, Journ. Am. Chem. Soc., *19*, 525 (1897). M. SOAVE, Staz. Sper. Agr. ital., *60*, 193, 244 (1907); G. GALEOTTI u. GIAMPALMO, Arch. ital. Biol., *51*, 232 (1910). M. DENNSTEDT u. F. HASSLER, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 489 (1906). — 2) DONARD u. LABBÉ, Compt. rend., *135*, 744 (1902); *137*, 264 (1903). Maiskeime: WINTERSTEIN u. WÜNSCHE, Ztsch. physiol. Chem., *95*, 310 (1915). — 3) JOHNS u. BREWSTER, Journ. Biol. Chem., *28*, 59 (1916). BREWSTER u. ALSBERG, Proc. Soc. Exp. Biol., *12*, 192 (1915). JOHNS u. JONES, Journ. Biol. Chem., *36*, 323 (1918). — 4) S. KAJIURA, Biochem. Journ., *6*, 171 (1912). — 5) KAJIURA, l. c. U. SUZUKI, YOSHIMURA u. FUGI, Journ. Coll. Agr. Imp. Un. Tokyo, *1*, 77 (1909); SUZUKI, T. SHIMAMURA u. S. ODAKE, Journ. Coll. Agr. Tokyo, I, Nr. 4, p. 381 (1913). — 6) Glyceria: C. HARTWICH u. C. HAKANSON, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, *10*, 473 (1905). — 7) A. MEYER, Justs botan. Jahresber. (1887), II, 557. P. LINDNER, Woch.schr. Brauerei, *35*, 237 (1918). — 8) C. FUNK, Journ. of Physiol., *45*, 75 (1912); Ergebn. d. Physiol., *13*, 123 (1913); Ztsch. physiol. Chem., *89*, 378 (1914). Die Naturwissenschaften, *2*, 121 (1914). SUZUKI, SHIMAMURA, l. c. E. B. VEDDER

am eingehendsten mit dieser interessanten Frage befaßt hat, meint, daß die in Frage stehenden Stoffe, die er als Vitamine bezeichnete, Basen der Pyrimidinreihe darstellen. Das Reisvitamin würde der Formel $C_{17}H_{20}N_2O_7$ entsprechen. Auffallend ist auch die von SUZUKI nachgewiesene Abspaltung von Nicotinsäure aus dem Vitamin von Oryza, welche auf die Existenz des Pyridinringes hindeutet, der bisher bei keinem Pyrimidinderivat nachgewiesen worden ist. Vitamin ließ sich auch in Hefe nachweisen durch die Heilwirkung gegen die Polyneuritis nach Verfütterung von geschältem Reis an Tauben. Der Zusammenhang dieser merkwürdigen Basen mit dem Eiweißumsatz ist wohl unbestreitbar, doch fehlen nähere Anhaltspunkte. In erster Linie wäre wohl an Beziehungen zum Nucleinumsatz zu denken. Nach Andeutungen bei SUZUKI über Emulsinspaltung dieser Basen, könnte es sich um glucosidische Verbindungen handeln. Die antipolyneuritische Substanz der Kleie ist wasserlöslich, nicht lipoidlöslich.

Für praktische Zwecke kann man die Kleberproteide durch Kneten eines Teiges aus 25 g Wasser und 50 g Mehl und Auswaschen desselben in strömendem Wasser bis zur Gewichtskonstanz, Trocknen und Wägen bestimmen (1). Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß man nicht verlustfrei operiert, und Gliadin auch in Kochsalzlösungen etwas löslich ist (2). FLEURENT (3) gewann aus Roggen für 100 g Mehl 8,26 g Kleber, aus Mais 10,63 g, aus Reis 7,86 g, aus Gerste 13,82 g und aus Buchweizen 7,26 g. Roggen und Weizen enthalten etwa 4% des Korngewichtes an Gliadin. Über Differenzen im Klebergehalte des Getreides nach Korngröße, Rasse Düngung usw. sind die Angaben von BESELER und MAERCKER (4), sowie jene von GATELLIER und L'HOTE (5) zu vergleichen. Die Bodenbeschaffenheit beeinflußt übrigens den Eiweißgehalt von Weizen nur wenig, das Klima viel mehr (6).

Einer Nachprüfung dürfte noch die Angabe von LAKON (7) bedürfen, wonach in den Samen von Fraxinus excelsior ein Mucin als Reservestoff vorhanden ist.

Proteosen hat OSBORNE bei seinen Untersuchungen insbesonders in verschiedenen Samen weit verbreitet nachgewiesen, doch stets in geringer Menge. Es ist noch nicht sichergestellt, welcher Anteil derselben als sicher präformiert angesehen werden kann und wie viel davon während der Präparation entsteht. In sehr geringer Menge fand MACK (8) in ruhenden Samen von Lupinus luteus einen Stoff, den er als echtes Pepton ansprach. Ältere Angaben über Peptone und Albumosen in Samen sind zweifelhaft. Bezüglich der außerordentlich geringen Mengen von verschiedenen Aminosäuren und Diaminosäuren, welche sich in ungekeimten Samen

---

u. R. WILLIAMS, Philipp. Journ. Sci., VIII, B, Heft 3, p. 175 (1913). C. FUNK, Die Vitamine, ihre Bedeutung usw. Wiesbaden 1914. Journ. of Physiol, *48*, 228 (1914). EUSTIS u. SCOTT, Biochem. Bull., *3*, 466 (1914). OSEKI, Biochem. Ztsch., *65*, 158 (1914).

1) A. VANDEVELDE u. LEPERRE, Chem. Zentr. (1902), I, 71. — 2) Vgl. G. L. TELLER, Ebenda (1897), I, 390. — 3) E. FLEURENT, Compt. rend., *123*, 327 (1896); *126*, 1374 (1898); *133*, 944 (1901). Chem. Zentr. (1903), I, 849. — 4) A. BESELER u. A. MAERCKER, Justs Jahresber. (1887), I, 159. — 5) E. GATELLIER u. L'HOTE, Compt. rend., *108*, 859, 1018, 1064 (1889); J. KÖNIG u. P. RINTELEN, Ztsch. Unt. Nahr. u. Gen.mittel, *8*, 401 (1904). SHAW, Univ. of Californ. Publ. Agr. Sci., *1*, 63 (1913). — 6) J. A. LE CLERC u. P. A. YODER, Journ. Agr. Res. Dpt. Agr. Washington, *1*, 275 (1914). — 7) G. LAKON, Naturwiss. Ztsch. Forst- u. Landwirtsch., *9*, 285 (1911). — 8) W. R. MACK, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 259 (1904). Auch TH. BOKORNY, Pflüg. Arch., *80*, 48 (1900).

frei vorfinden, wäre auf die Angaben von SCHULZE und CASTORO (1) hinzuweisen.

Auch die Nucleoproteide der Samen waren in einigen Fällen Gegenstand der Untersuchung. Genauer bekannt sind allerdings nur einige Daten bezüglich der Nucleinsäuren aus Grassamen. Aus dem Embryo von Gramineen lassen sich Nucleinsäuren reichlich gewinnen und OSBORNE (2) konnte etwa $^1/_3$ der gesamten Nucleinsäuren aus entfetteten Weizenembryonen schon durch einfache Wasserextraktion gewinnen. PETIT (3) stellte ein Nucleinpräparat aus Hordeum-Embryonen her, welches aber noch viel fremde Aschenbestandteile, darunter 3,2 % SiO_2 und 0,195 % Eisen enthielt. Am eingehendsten ist durch die Arbeiten von OSBORNE die Nucleinsäure aus Weizenembryonen bekannt geworden, die den Namen Triticonucleinsäure erhalten hat. Die Substanz soll der Zusammensetzung $C_{41}H_{61}N_{16}P_4O_{31}$ entsprechen, und bei der Hydrolyse Adenin, Guanin, Uracil und Ammoniak liefern. Sie ist in Wasser schwerer löslich als tierische Nucleinsäure, bildet leichtlösliche Alkalisalze. Sie soll drei Pentosengruppen, aber keine Hexosengruppe einschließen. Nach LEVENE und LA FORGE (4) liefert die Triticonucleinsäure bei der partiellen Hydrolyse wie Hefenucleinsäure Guanosin, Adenosin und Cytidin, und enthält d-Ribose. Es liegt jedenfalls der Verdacht vor, daß schwer abzutrennende organische Beimengungen in den Präparaten von OSBORNE noch vorhanden waren und die Triticonucleinsäure möglicherweise mit der Myconucleinsäure aus Hefe identisch ist (5). Man erhält nach OSBORNE bedeutend weniger an Nucleinsäure, wenn die gepulverten Embryonen nicht frisch verarbeitet werden. Außer dieser Nucleinsäure fanden OSBORNE und CAMPBELL (6) im Weizenembryo noch 10 % Leucosin, 5 % eines Globulins und 3 % an zwei verschiedenen Proteosen. Das Leucosin dürfte vor allem im Embryo lokalisiert sein.

Über die Menge der in verschiedenen Samen enthaltenen Nucleoproteide versuchte man durch die Bestimmung des N, P und S in dem durch Pepsin-HCl „unverdaulichen" Anteiles des Materiales Aufschluß zu erhalten. KLINKENBERG (7) führte folgende für verschiedene Futtermittel bestimmte Werte an.

	In Prozenten der Trockensubstanz			
	Gesamt-N	Cu fällbarer N	unverdaulicher N	Nuclein-P
Mohnkuchen	6,226	5,822	0,706	0,7070
Sesamkuchen	6,331	6,234	0,406	0,0481
Sojabohne	6,296	5,696	0,270	—
Erdnußkuchen . . .	7,575	7,231	0,345	0,0361
Coprakuchen	3,382	3,154	0,254	0,0335
Rapskuchen	5,302	4,625	0,677	0,0676
Baumwollsamenkuchen .	6,714	6,423	0,583	0,0670
Reismehl	1,980	1,840	0,409	0,0402

STUTZER (8) gab folgende Zahlen:

1) E. SCHULZE u. N. CASTORO, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 455 (1904). — 2) TH. B. OSBORNE u. J. F. HARRIS, Ebenda, *36*, 85 (1902). — 3) P. PETIT, Compt. rend., *115*, 246; *116*, 995 (1892). — 4) P. LEVENE u. F. LA FORGE, Ber. chem. Ges., *43*, 3164 (1910). P. LEVENE, Biochem. Ztsch., *17*, 120 (1909). — 5) Vgl. READ u. TOTTINGHAM, Journ. biol. Chem., *31*, 295 (1918). — 6) TH. B. OSBORNE u. G. F. CAMPBELL, Journ. Am. Chem. Soc., *22*, 379 (1900). — 7) W. KLINKENBERG, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 155 (1882). — 8) A. STUTZER, Ebenda, *11*, 207 (1887).

	Proz. Gesamt-N	Hiervon unverdaulich	Von 100 Teilen N unverdaulicher N
Reisfuttermehl . . .	2,106	0,326	15,6
Palmkuchen	2,520	0,378	15,0
Baumwollsaatkuchen .	7,401	0,542	7,3
Cocoskuchen	3,549	0,294	8,2
Rapskuchen	5,443	0,550	10,2
Erdnuß	8,132	0,363	4,5
Lupine	7,839	0,066	0,8
Malzkeime	4,167	0,382	9,2
Steinnuß	0,619	0,082	13,3

AMTHOR (1) untersuchte das Nuclein der Vitissamen während der Reife der Beeren und fand:

	Ätherlöslicher P		Mit verdünnter HCl extrahierbarer Phosphor		Nuclein-P
Am 6. September verhielt sich wie	1	:	9,4	:	1,1
„ 30. „ „ „ „	1	:	10,0	:	0,9
„ 30. Oktober „ „ „	1	:	9,4	:	0,8

wenn die in Äther lösliche Phosphormenge gleich 1 gesetzt wurde.

Geschälte Beta-Samen enthalten nach STROHMER und FALLADA (2) 3,16 % der Trockensubstanz an Nuclein.

Gegen alle diese Ermittelungen läßt sich insbesondere einwenden, daß der als unverdaubar bezeichnete N und P nicht vollständig aus den Nucleoproteiden stammen muß. Übrigens zeigen sich in diesen Tabellen manche Widersprüche im Verhältnis des unverdaulichen N und des Nucleinphosphors.

Zweifellos im Zusammenhange mit dem Nucleinumsatz stehen die Befünde von Allantoin in manchen Samen von Solanaceen: Nicotiana und Datura Metel L. (3).

§ 2.

Methodische und quantitative Ermittelungen.

Als das schonendste Verfahren zur Bestimmung der Reserveproteide in Samen, soweit es sich nicht um die in verdünntem Alkali löslichen Stoffe auch handelt, darf die Extraktion mit 10 % NaCl gelten, welche OSBORNE und seine Mitarbeiter eingeführt haben und auf Grund deren sie zahlreiche approximative quantitative Angaben lieferten. Dieses Verfahren, welches oft nützliche Dienste leisten würde, wird aber sowie das ältere RITTHAUSENsche Verfahren: Ausziehen mit verdünnter Alkalilauge und Fällen mit Essigsäure, in der Untersuchungspraxis, welcher wir die meisten zahlenmäßigen Ermittelungen über Samenproteide verdanken, nicht angewendet, sondern meist die von STUTZER (4) herrührende Fällung der Eiweißstoffe aus dem Material mit Kupferhydroxyd.

---

1) C. AMTHOR, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 138 (1885). — 2) F. STROHMER u. O. FALLADA, Chem. Zentr. (1906), I, 1440. — 3) Nicotiana: F. SCURTI u. F. PERCIABOSCO, Gazz. chim. ital., *36*, II, 626 (1906); Datura: G. DE PLATO, Ann. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), III, 187 (1909). — 4) A. STUTZER, Journ. f. Landw., *28*, 103, 435 (1880); *29*, 473; Ber. chem. Ges., *13*, 251 (1880); Ztsch. physiol. Chem., *9*, 211 (1885). Keine Bedeutung besitzt gegenwärtig mehr das Verfahren nach BEHREND (1884) mit Ferriacetat. Ein Vergleich der Bestimmungsmethode mit Pb und Cu findet sich bei BÖHMER, Landw. Vers.stat., *28*, 250. Ferner E. SCHULZE, Landw. Jahrb., *6*, 157; Landw. Vers.stat., *24*, 358. SCHULZE u. BARBIERI, Ebenda, *26*, 213 (1881). Proteinbestimmung in Getreide: G. SILVESTRI, Ann. di Chim. appl., *1*, 214 (1914).

1 g Substanz wird durch 1 mm-Sieb gebracht, in einem Becherglase mit 100 ccm Wasser zum Sieden erhitzt (bei stärkehaltigen Substanzen wird 10 Minuten im Wasserbade erwärmt), sodann 0,3—0,4 g aufgeschlämmtes $Cu(OH)_2$ zugesetzt. Zur Herstellung des $Cu(OH)_2$ löst man nach FASSBENDER (1) 100 g $CuSO_4$ in 5 l Wasser, setzt 2,5 ccm Glycerin zu, fällt mit einer genügenden Menge NaOH, welche man auf 1,5 l verdünnt hat; nun läßt man auf dem Filter abtropfen, verreibt in einer Schale mit Wasser (1 l Wasser und 5 ccm Glycerin) und wächst das Alkali gänzlich aus. Nach dem Erkalten der mit $Cu(OH)_2$ versetzten Mischung wird filtriert und im ausgewaschenen Rückstande der Stickstoff nach KJELDAHL bestimmt. Enthielt das Material viel Phosphor, so hat man vor dem Kupferzusatze einige Kubikzentimeter Alaunlösung zuzufügen. Die in der Praxis nach dem Vorschlage von HENNEBERG übliche Berechnung des Eiweiß durch Multiplikation des erhaltenen N mit 6,25 hat die fehlerhafte Voraussetzung, daß die Samenproteide gerade 16% N enthalten. RITTHAUSEN (2) schlug auf Grund besserer Erfahrungen vor, bei der Analyse von Getreide und Hülsenfrüchten (18,2% N) den Faktor 5,7 zu benutzen, bei Ölsamen 5,5.

So sind die vielen Eiweißbestimmungen in Samen, welche die Literatur enthält (vgl. 1. Auflage, Bd. II, p. 155) in ihrer Richtigkeit sehr schwankend, da sie mit Hilfe der landläufigen Berechnung des „Rohproteins“ gewonnen sind, und dürfen nur mit Kritik und Vorsicht zu wissenschaftlichen Zwecken herangezogen werden.

Im allgemeinen trifft es zu, daß fetthaltige Samen durchschnittlich mehr Eiweiß gespeichert haben als amylumreiche Samen. Jedoch ist bei den letzteren selten Nährgewebe und Embryo getrennt untersucht worden, und man ist nicht im klaren, ob die Differenz des Reserveproteingehaltes für die Nährgewebe allein nicht noch größer ausfallen würde. Für die Getreidearten ist es durch die Analysen erwiesen, daß der Keim mehr als doppelt so viel Protein enthält als das Endosperm. Hohe Eiweißwerte werden ferner für die amylumhaltigen Samen der Chenopodiaceen angegeben. Für die Samen der Leguminosen, welche größtenteils viel Stärke und weniger Fett enthalten, findet man die höchsten Zahlen für den Eiweißgehalt, die bis zur Hälfte der Trockensubstanz hinaufgehen. Man kann daher vorläufig keine allgemeine Regel über einen Zusammenhang zwischen Kohlenhydrat- resp. Fettgehalt der Nährgewebe und ihrem Gehalte an Reserveproteiden aufstellen.

Einen Fall, in dem die einzelnen Teile des Samens resp. der Frucht genauer hinsichtlich ihres Eiweißgehaltes geprüft sind, bietet die Untersuchung von HOPKINS, SMITH und EAST (3) für Zea Mays. Die erste der Analysen betrifft eine Maissorte von minderem, die zweite eine Sorte von mittlerem, die dritte Analyse eine Maissorte von hohem Proteingehalt.

	Anteil der Partien am Korngewicht in Proz.			Anteil der Partien am Eiweißgehalt in Proz.		
	I	II	III	I	II	III
Spitzenkappe	1,20	1,46	1,62	7,36	8,83	4,64
Hülle	5,47	5,93	6,09	.4,97	3,96	3,84
Hornige Schicht (Kleber)	7,75	5,12	9,86	19,21	22,50	24,58
Hornige Stärkeschicht	29,58	32,80	33,79	8,12	10,20	10,99
Bodenstärke	16,94	11,85	10,45	7,22	7,92	8,61
Spitzenstärke	10,03	5,91	6,23	6,10	7,68	7,29
Keim	9,59	11,53	11,93	19,91	19,80	19,56
Ganzes Korn	100,0	100,0	100,0	9,28	10,95	12,85

1) G. FASSBENDER, Ber. chem. Ges., *13*, 1821 (1880). — 2) RITTHAUSEN, Landw. Vers.stat., *47*, 391 (1896). E. SCHULZE, Ebenda, *33*, 124 (1887). — 3) C. G. HOPKINS, L. H. SMITH u. E. M. EAST, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 1116 (1903).

Bei der Bestimmung der N-Verteilung nach VAN SLYKE könnten etwa vorhandene Nucleinsäuren ein Plus in der Argininfraktion vortäuschen (1).

Neununddreißigstes Kapitel: Eiweißresorption bei der Samenkeimung und Eiweißregeneration im Keimling.

§ 1.

Der allgemeine Verlauf der Eiweißmobilisierung.

Nach den vorliegenden Erfahrungen darf man die Ansicht als berechtigt ansehen, daß die Mobilisierung der Reserveproteide im Samen während der Keimung des letzteren auf keinem anderen Wege erfolge, als die Eiweißresorption durch Pilze, Bacterien und bei der tierischen Verdauung: nämlich durch hydrolytische Spaltung des Reserveeiweiß auf enzymatischem Wege mit nachfolgender neuerlicher Synthese von Proteiden aus den Eiweißspaltungsprodukten in der Keimpflanze selbst. Die einzelnen Phasen dieser Vorgänge sind äußerst ungleich gut bekannt und der ganze Prozeß in vieler Hinsicht nicht hinreichend aufgehellt. Ganz unbekannt scheinen die allerersten Produkte der Eiweißspaltung zu sein, die intermediär entstehenden Polypeptide. Relativ gut kennt man das Gemisch der hydrolytischen Endprodukte der Proteolyse bei der Keimung, besonders durch die vielen eingehenden analytischen Studien von E. SCHULZE und dessen Schülern. SCHULZE (2) hat sich zuerst dahin geäußert, daß man aus theoretischen Gründen erwarten sollte, eine nahe Übereinstimmung dieser Produkte mit dem Hydratationsgemische anderer vollständiger Eiweißhydrolysen zu finden (3). Da nun aber sehr rasch sekundäre Veränderungen verschiedener Spaltungsprodukte erfolgen und anscheinend Vorgänge, die bereits in den Komplex der Eiweißregeneration gehören, unmittelbar an die Hydrolyse der Reserveproteide sich anschließen, so wird das Bild in derart tiefgehender Weise verändert und getrübt, daß es noch nicht möglich war, das Schicksal und die Bedeutung der einzelnen Intermediärprodukte hinreichend aufzuklären.

Natürlich ist die Zahl, welche man jeweilig in den einzelnen Keimungsstadien (wenn der Prozeß unter normalen Lebensbedingungen verläuft) für den Eiweißverlust findet, eine Resultante aus dem Gesamtverluste an Reserveproteiden und dem bereits neugebildeten Protein. Durch geeignete Bedingungen, wie andauernde Verdunkelung, läßt sich die Eiweißregeneration erfahrungsgemäß hemmen und auf die Ursachen dieser Hemmung wird noch einzugehen sein; wir wissen jedoch nicht, wie weitgehend die Folgen der Lichtentziehung für den Gesamtkomplex der Eiweiß-

---

1) BREWSTER u. ALSBERG, Journ. Biol. Chem., *37*, 367 (1919). — 2) E. SCHULZE, Landw. Jahrb. (1885), p. 713; *35*, 621 (1906). Bestimmung der nichtproteinartigen Verbindungen: Journ. f. Landw., *52*, 305 (1904). GREENWALD, Journ. Biol. Chem., *21*, 61 (1905). BLISH, Ebenda, *33*, 551 (1918). Vgl. auch J. M. PETRIE, Linn. Soc. N. S. Wales 1908). — 3) Vergleich der Hydrolyse von Helianthus-Samen mit den Keimungsprodukten und mit der Autolyse. F. SCURTI u. A. PARROZZANI, Gazz. Chim. ital., *38*, I, 216 (1908). Staz. Sper. agrar. ital., *41*, 577 (1908); Ann. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), II, 285. (1908). Für Avena sativa: A. PUGLIESE, Arch. Fisiol., *10*, 292 (1912). Formoltitration: LANGKAMMERER, Ztsch. ges. Brauwes, *42*, 236 (1919).

regeneration sind; jedenfalls stimmt das vorhandene Aminosäuregemisch in verdunkelten Keimlingen nicht überein mit dem künstlich aus dem Reserveprotein zu erhaltenden tryptischen Verdauungsgemisch.

In methodischer Hinsicht wird man zu Versuchen über den Verlauf der Eiweißresorption bei der Samenkeimung Samen bevorzugen, welche ein relativ sehr großes Nährgewebe und einen kleinen Embryo besitzen, um Fehler durch den Eiweißgehalt des letzteren möglichst zu vermindern. Als SCHULZE und FLECHSIG (1) verschiedene Samen im Dunklen auf Sägemehl keimen ließen, erhielten sie in drei Keimungsstadien folgende Zahlen für Stickstoff in Prozenten des Gesamt-N.

	Ungekeimt			Dieselben N-Verbindungen in den 3 Keimungsstadien:								
	Eiweiß N	Amid N	In essigsaurem Alkohol lösl. N	I			II			III		
Erbsen	86,44	11,62	1,94	58,33	30,34	11,33	62,04	26,90	11,06	70,90	16,98	5,12
Bohnen	87,94	10,70	1,36	70,66	21,29	8,05	63,42	23,53	13,05	83,76	11,44	4,80
Lupine	83,92	14,89	1,19	53,73	40,05	6,22	55,29	30,13	14,58	73,13	20,56	6,31
Roggen	77,13	17,02	5,85	63,47	26,94	9,59	69,06	19,28	11,66	—	—	—
Hafer	89,67	2,18	8,15	72,77	17,33	9,90	71,21	13,64	15,15	—	—	—
Gerste	88,08	9,33	2,59	75,12	16,27	8,61	69,63	22,43	7,94	—	—	—
Weizen	86,79	10,12	3,09	80,08	13,15	6,77	73,05	20,31	6,64	—	—	—

Bei den reserveproteidreichen Leguminosensamen liegt demnach der minimale Eiweißwert im Keimungsverlauf merklich niedriger als bei den Gräsern. Bei den Leguminosen machen die Amide schließlich 50—70% des Gesamt-N der Keimpflanzen aus, und Asparagin kann nach SCHULZE (2) bis 30% der Trockensubstanz betragen. Da Asparagin 21,24% N und (nach OSBORNE) Conglutin 17,99% N enthält, so entsprechen im N-Gehalte 84,68 Teile Asparagin 100 Teilen Conglutin, bei N-ärmeren Eiweißstoffen noch mehr als 100. SCHULZE, URICH und UMLAUFT (3) untersuchten die Keimung von Lupinus luteus im Dunkeln; die erste Untersuchung wurde nach 8 Tagen Keimung vorgenommen (I), bis dahin betrug der Trockensubstanzverlust 12,64%; die Keimungsperiode (II) war nach 13 Tagen erreicht (Substanzverlust bis dahin 18,31%). In 100 Teilen geschälten Materials waren enthalten:

In Wasser unlöslich:	Ungekeimte Samen	I.	Differenz	II.	Differenz
Conglutin . .	40,32	21,40	— 18,92	10,25	— 11,15
Löslich:					
Albumin . . .	1,50	3,53	+ 2,03	1,41	— 2,12
Conglutin . .	3,25	—	— 3,25	—	—
Asparagin . .	—	9,78	+ 9,78	18,22	+ 8,44
Aminosäuren . und andere N-haltige Stoffe	13,58	27,08	+ 13,50	24,54	— 2,54

Somit wurden 25,42% des vorhanden gewesenen Conglutins als tiefstes Minimum gefunden; von den 45,07 Gewichtsprozenten Eiweiß im ungekeimten Samen waren nach 12 Keimungstagen 11,66 vorhanden. Das gebildete Asparagin enthielt allein 63,5% des N des nicht mehr vorhandenen Conglutins. In weiteren Untersuchungen fand SCHULZE (4) bei der Keimung von Lupinus luteus im Dunkeln (18—20° C) folgende Zahlen:

1) E. SCHULZE u. E. FLECHSIG, Landw. Vers.stat. (1885), p. 137. — 2) E. SCHULZE, Landw. Jahrb., 9, 12 (1880). — 3) E. SCHULZE, W. UMLAUFT u. A. URICH, Ebenda, 5, 821 (1876). — 4) E. SCHULZE, Ebenda (1878), p. 411.

	Ungekeimt	4 Tage	7 Tage	12 Tage	15 Tage	Keimungszeit
Eiweiß Proz. . .	51,0	44,44	31,88	16,0	11,56	
darin N	8,16	7,11	5,10	2,56	1,85	

Er berechnete daraus einen Eiweißverlust von

binnen	4	7	12	15 Tagen
pro 100 Teile Samentrockensubstanz:	9,09	23,14	37,93	42,02
pro 100 Teile des ursprünglichen Eiweiß:	17,8	45,4	74,4	82,4

Von dem N des verschwundenen Eiweiß fand SCHULZE (trotz der damals noch unentwickelten Methodik) über 80% wieder.

MERLIS (1) erzog Lupinus angustifolius im Dunkeln auf Gazenetzen in Wasser und fand in 2 bis 2½wöchentlichen Keimlingen 12,15% Eiweiß, 25,17% Asparagin, 2,12% Nuclein (u. a. unverdauliche Proteide) gegen 36,18% Eiweiß, 0,0% Asparagin und 0,88% Nuclein in den ungekeimten Samen. Der Proteinzerfall nahm bis zum 9. Tage zu und wurde dann langsamer, das Asparagin vermehrte sich rasch bis zum 12. Tage, und nahm noch bis zum 15. Tage zu, als die Eiweißmenge schon gleich blieb.

A. BEYER (2) untersuchte die Keimung von L. luteus in reinem Sande am Licht. Nach Verlauf der ersten Keimungsperiode waren die Cotyledonen noch in der Samenschale; Hypocotyl + Wurzel 1—1½ Zoll lang. Nach Ablauf von Periode II waren alle Cotyledonen hervorgebrochen und ergrünend; Keime 2—3 Zoll lang. Die Samenschale wurde mitanalysiert. 1000 Stück bei 100° getrocknete Samen enthielten in Grammen:

		I.			II.		
	Ungekeimt	Cotyled.	Hypocot.	Wurzel	Cotyled.	Hypocot.	Wurzel
Protein . .	49,075	44,250	1,491	0,540	40,263	1,806	1,028
Asparagin .	—	—	0,521	0,224	0,965	0 977	0,670
Gesamt-N .	7,852	7,080	0,348	0,134	6,646	0,496	0,306

Danach stieg das Minus an Protein in den Cotyledonen bis auf 17,96% der Anfangsmenge.

PRIANISCHNIKOFF (3) fand bei Vicia sativa im Dunklen:

	100 g Samen enthielten Gramm	Die Keimpflanzen enthielten in Gramm nach 20 Tagen	nach 40 Tagen
Protein	28,5	10,60	8,86
Asparagin	—	7,86	9,92
andere Aminosäuren	—	10,19	10,57
organische Basen .	2,25	2,62	1,50

Die Eiweißmenge sank somit um 68,91% der Anfangsmenge.

ANDRÉ (4) lieferte für Bohnen, in Ackerboden gesät, analoge Daten von Licht- und Dunkelpflanzen. Letztere hatten nach 1 Monat 49% des ursprünglichen Trockengewichtes verloren, das Reserveproteid war gänzlich verschwunden und der Stickstoff des wasserlöslichen Rückstandes betrug 83,5% des Gesamt-N. In Keimungsversuchen von ZLATAROFF (5) an Cicer

1) M. MERLIS, Landw. Vers.stat., *48*, 419 (1897). — 2) A. BEYER, Ebenda, *9*, 168. — 3) PRIANISCHNIKOFF, Ebenda, *46*, 467 (1896). E. SCHULZE, Ebenda, *39*, 294 (1891). — 4) G. ANDRÉ, Compt. rend., *134*, 995 (1902); *130*, 728 (1900); *167*, 1004 (1918). — 5) A. ZLATAROFF, Biochem. Ztsch., *75*, 200 (1916). Über Triticum vgl. PETTIBONE u. KENNEDY, Journ. Biol. Chem., *26*, 519 (1916); Pisum: SURE u. TOTTINGHAM, Ebenda, p. 535. THOMPSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 230 (1915).

arietinum war binnen 25 Tagen der Proteingehalt auf ⅓ des Anfangsgehaltes gesunken; das Nuclein blieb fast unverändert.

Die Gerste wurde hinsichtlich ihres Keimungsstoffwechsels mehrfach untersucht, doch sind die analytischen Daten des Proteinzerfalles erst in den gründlichen Untersuchungen von SCHJERNING (**1**) mit der wünschenswerten Genauigkeit ermittelt worden. Die Zunahme des wasserlöslichen Stickstoffes während der Keimung von Hordeum verfolgte BEHREND (**2**) mit dem Ergebnisse, daß innerhalb der ersten 9—10 Keimungstage mehr als die Hälfte, ja manchmal der ganze Stickstoff des ungekeimten Korns als wasserlöslicher N vorliegt, wobei von dem letzteren etwa ¾ auf Eiweiß-N, ¼ auf Amid-N gerechnet werden kann. Bei der Einquellung gehen 3,4 bis 5,2% des Gesamt-N durch Auslaugen verloren. Nach SYBEL (**3**) enthält der Blattkeim der Gerste in Prozenten der Trockensubstanz 2,21 „Albumin und Legumin“, 1,02 „Peptone“, 6,38 Amide, 19,65 wasserunlösliches Eiweiß. Im Wurzelkeim ergaben sich 0,92 „Albumin und Legumin“, 0,75 „Peptone“, 13,54 Amide und 13,97 unlösliches Protein.

Für die Folge waren zunächst die Untersuchungen von OSBORNE und CAMPBELL (**4**) von großer Bedeutung. Dieselben ergaben, daß die Samenproteide der Gerste zunächst ohne tieferen hydrolytischen Zerfall durchgreifende Veränderungen erfahren. Das Ergebnis dieser Forschungen kann in den Hauptzügen durch die nachfolgende Übersicht wiedergegeben werden.

	Ungekeimte Gerste	Malz
In Wasser lösliche Proteide:	1. Leucosin, 0,3 % der Samentrockensubstanz.	1. Leucosin, unverändert in etwas vermehrter Menge wiedergefunden.
	2. Proteosen, eine oder mehrere, nicht getrennt erhalten, in geringer Menge.	2a. Heteroproteose. 2b. Deuteroproteose, beide nur in geringer Menge.
In Kochsalz lösliche Proteide:	3. Globulin in geringer Menge (als Edestin bezeichnet).	3. Bynedestin, vom ursprünglichen Edestin ganz verschieden. Bildet 60 % aller Malzproteide.
In 75 % Alkohol lösliche Proteide:	4. Hordein, mit RITTHAUSENs Mucedin identisch 54,29 % C, 4 % der Samen.	4a. Bynin, mit 55 % C. Neu aufgetretenes Kleberproteid, 1,25 % des Malzes.
In Wasser, Salzlösungen und in Alkohol unlösliche Proteide:	Betragen 42 % des Gesamt-N und 4,5 % des Mehles.	3,8 % solcher Proteide.
Die Gesamtsumme beträgt demnach:	10,75 % Proteide, und zwar 4,50 unlösliches Protein; 4,00 Hordein; 0,30 Albumin; 1,95 Edestin u. Proteose.	7,84 % Proteide, und zwar 3,80 unlösliches Protein; 1,75 alkohollöslich, hiervon 1,25 % Bynin; 2,79 in NaCl lösliche Proteide.

Im Malz sind somit die Proteide um 28,07 % des Gesamteiweiß im ungekeimten Korn vermindert. Von Interesse ist das Auftreten eines neuen

---

1) H. SCHJERNING, Compt. rend., Carlsberg, *8*, 169 (1910); *9*, 237 (1913); *11*, 333 (1917). — **2**) P. BEHREND, Stoffumsatz bei der Malzbereitung. Programm Hohenheim (1884); Justs Jahresber. (1886), I, 72. Ferner STEIN, Landw. Vers.stat., *3*, 93 (1861). BALLAND, Justs Jahresber. (1883), I, 40. HILGER u. A. VAN DER BECKE, Arch. Hyg., *10*, 477 (1890). — **3**) J. SYBEL, Justs Jahresber. (1890), I, 44. — **4**) TH. OSBORNE u. G. CAMPBELL, Journ. Amer. Chem. Soc., *18*, 542 (1896).

globulinartigen Eiweißstoffes, des Bynedestins, welches mit konzentriertem NaCl nicht aussalzbar ist, mit $MgSO_4$ nur teilweise fällt, und auch bei 100° noch nicht völlig koaguliert. Es ist erheblich stickstoffärmer und C-reicher als das Hordeum-Edestin und dürfte vielleicht durch sehr geringe Spaltung aus dem Edestin entstehen.

Hordeum-Edestin .	50,80 % C	6,65 % H	18,10 % N	24,37 % S und O
Bynedestin . . .	53,19 % C	6,69 % H	15,68 % N	1,25 % S und 23,19 % O.

Analog ist auch Bynin stickstoffärmer als das Hordein. Nach LÜERS (1) aber handelt es sich im Bynin um unverändertes Hordein.

Ob bei der Bildung des Bynedestins Proteosenkomplexe abgespalten werden, ist nicht bekannt. Im Mobilisierungsprozesse der Gerstenproteide bei der Keimung finden wir demnach, daß sich die unlöslichen Proteide vermindern um 15,56%, die alkohollöslichen vermehren um 31,25%, die chlornatriumlöslichen vermehren um 19,54 %.

Hier schließen sich nun die eingehenden Untersuchungen von SCHJERNING über die Veränderungen der Gerstenproteide beim Mälzen an. Zu der nachfolgenden Tabelle sei bemerkt, daß „Albumin I“ SCHJERNING identisch ist mit Leucosin, „Albumin II“ mit Edestin oder Bynedestin.

Keimungsdauer	Extrakt	10 000 Körner enthalten: Stickstoff in Gramm in der Form von: lösliche Verbindungen	unlösl. Verbindungen	Album. I	Album. II	De-nuclein	Proteose	Pepton	Ammonium-, Amid-, Amino-
Eingequellt	Toluolwasser	0,84	5,42	0,19	0,15	0,04	0,00	0,08	0,38
4 Tage:	Toluolwasser	1,84	4,25	0,47	0,04	0,19	0,08	0,07	0,99
	Samenbrei	1,88	4,21	0,35	0,02	0,20	0,09	0,10	1,12
7 Tage:	Toluolwasser	2,35	3,38	0,50	0,14	0,16	0,04	0,20	1,31
	Samenbrei	2,42	3,31	0,35	0,00	0,27	0,14	0,20	1,46
10 Tage:	Toluolwasser	2,29	3,13	0,53	0,03	0,19	0,06	0,17	1,31
	Samenbrei	2,48	2,93	0,31	0,00	0,30	0,12	0,24	1,51

Bezüglich der weiteren Veränderungen der Hordeumproteide während der 10tägigen Keimungsperiode in der Malzbereitung kommt SCHJERNING in seinen umfangreichen Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß das unlösliche Eiweiß der Gerste teilweise durch ein oder mehrere Zwischenstufen in ein wasserlösliches Proteid vom analytischen Verhalten des Edestins übergeht. Dieses verwandelt sich weiter in ein anderes, welches sich so verhält, wie Leucosin und dann in der Proteolyse in Proteosen, Pepton übergeht. Auch das Hordein verwandelt sich über Bynin in ein wasserlösliches echtes Protein vom analytischen Verhalten des Edestins und weiter, wie eben erwähnt, in Leucosin und Proteosen. Ebenso geht Edestin selbst über Bynedestin in Leucosin über. Die leucosinartigen Stoffe aus unlöslichem Protein, Hordein und Edestin verändern sich rasch unter der Einwirkung der Protease in die Abbauprodukte, während das präexistente Leucosin und das aus den Edestinsalzen entstehende anscheinend recht resistent gegen die proteolytische Einwirkung ist.

Bei der Untersuchung der Malzkeime fand YOSHIMURA (2) Histidin, Cholin und Betain, aber kein Arginin, Vernin und Asparagin.

Für Helianthus annuus hat endlich FRANKFURT (3) folgende Daten gegeben:

1) H. LÜERS, Biochem. Ztsch., *96*, 117 (1919). — 2) K. YOSHIMURA, Ebenda, *31*, 221 (1911). — 3) S. FRANKFURT, Landw. Vers.stat., *43*, 143 (1894).

	Eiweiß	Nuclein	Asparagin u. Glutamin
Geschälte ungekeimte Früchte	24,06 %	0,96 %	—
Etiolierte Keimlinge	15,00 %	4,56 %	4,05 %

Mikroskopisch läßt sich die Lösung der Reserveproteide leicht an Aleuronkörnern und deren Krystallen und Globoiden verfolgen, die einen Vacuolisierungsprozeß erleiden, und so verschwinden (1). Bei Strychnos verschwinden nach TSCHIRCH (2) die Aleuronkörner zuerst, früher als die Reservecellulose. Erwähnt wurde bereits die Beobachtung von KRITZLER (3), daß in lange aufbewahrten Samen, besonders deutlich bei Myristica surinamensis, die Löslichkeit der Aleuronkörner in 10 % NaCl stark abnimmt, was dieser Autor mit dem Eintritt der Keimungsunfähigkeit bei alten Samen in Zusammenhang brachte. Doch fand LAKON (4) für Fraxinus excelsior keine solche Beziehung. Dort sollen angeblich die Aleuronkörner aus einem Glucoproteid bestehen.

Die Lösung der Reserveproteide fand ferner in den Versuchen von PURIEWITSCH (5) über die selbsttätige Entleerung der Reservestoffbehälter Berücksichtigung. Bei Lupinus albus konnte in der Flüssigkeit, in welche ein an den Cotyledonen befestigtes als Ableitungsvorrichtung dienendes Gipssäulchen eintauchte, ziemlich viel Asparagin nachgewiesen werden. Auch auf die Untersuchungen von TISCHLER (6) über die Selbstverdauung von Endospermzellen ist hier hinzuweisen. JOFFRIN (7) meinte in den Intercellulargängen der Cotyledonen die Wege erblicken zu sollen, auf denen die Lösungsprodukte der Reserveproteide wegtransportiert werden. Übrigens sei daran erinnert, daß die Anwesenheit des Nährgewebes keine unentbehrliche Bedingung für das Fortkommen des Embryos darstellt, so daß sich Ricinus, Nigella,. Papaverkeimlinge in den Versuchen von URBAIN (8) auch nach sehr frühzeitiger Fortnahme des Nährgewebes entwickeln konnten. Allerdings kommt es zu Zwergwuchs und Schädigung der Blattbildung.

Der „unverdauliche Stickstoff", welchen man hauptsächlich auf Nuclein zu beziehen pflegt, nimmt, wie schon einige oben angeführte Daten zeigen, bei der Keimung stetig zu. PRIANISCHNIKOW (9) gab allerdings für Vicia sativa an, daß zunächst eine Abnahme, dann eine unbedeutende Zunahme des unverdaulichen N stattfinde. Doch haben andere Untersucher stets Zunahme konstatiert. PALLADIN (10) fand für die Keimung im Dunklen bei Triticum und Lupinus folgende Zahlen in Milligramm unverdaulichen N in 100 Keimlingen:

Triticum	Gequoll. Körner	3 Tage	6 Tage	9 Tage	11 Tage	14 Tage
verdaul. N	61,9	—	48,8	—	—	44,9
unverdaul. N a	5,0	5,2	9,0	12,1	—	—
unverdaul. N b	—	—	6,6	9,1	—	10,2

Lupinus	Gequoll. Körner	nach 3	7	10	14 Keimungstagen
verdaul. N	—	796,0	476,2	194,1	170,4
unverdaul. N	27,6	25,3	26,7	26,5	27,2

1) Neuere Arbeiten: A. GUILLIERMOND, Arch. Anat. Micr., *10*, 141 (1908); J. BEAUVERIE, Assoc. Franc. Av. Sci. (1907), p. 396; Compt. rend., 3. Dez. 1906; Soc. Biol., *61*, 556 (1906). — 2) A. TSCHIRCH, Arch. Pharm., *228*, 203 (1890). — 3) H. KRITZLER, Untersuch. über die Aleuronkörner. Bonn 1900, p. 67. — 4) G. LAKON, Naturwiss. Ztg. Forst- u. Landw., *9*, 285 (1911). — 5) K. PURIEWITSCH, Jahrb. wiss. Bot., *31*, 1 (1898). — 6) G. TISCHLER, Ebenda, *52*, 29 (1912). — 7) J. JOFFRIN, Rev. gén. Bot., *17*, 421 (1905). — 8) J. A. URBAIN, Compt. rend., *157*, 450 (1913). — 9) PRIANISCHNIKOFF, Landw. Vers.stat., *45*, 253 (1894). — 10) W. PALLADIN, Rev. gén. Bot., *8*, 228 (1896); Botan. Zentr., *67*, 79 (1896).

IWANOFF (1) hat mit Recht gegen die Methode der Bestimmung des unverdaulichen N Einwände geltend gemacht; es ist schwer zu sagen, ob dieser N einen einheitlichen Ursprung hat und ob der Anteil der Nucleine hieran nicht ein verschiedener sein dürfte. Deswegen zog es IWANOFF vor, die Bestimmung des Eiweißphosphors als Kontrolle des Nucleinumsatzes zu benutzen, und ZALESKI (2) hat außerdem die quantitative Bestimmung der Purinbasen herangezogen. Der letztgenannte Forscher hat nachgewiesen, daß während der Keimung des Samen von Vicia faba sowohl der Eiweißphosphor als die Menge der Purinbasen in den wachsenden Teilen der Keimpflanze zunimmt. Die Nucleine sind somit nur Baustoffe, und für die Annahme von reservestoffartigen Nucleinsubstanzen fehlen alle Anhaltspunkte.

Schon aus den älteren Versuchen von SCHULZE, dann jenen von MERLIS und besonders aus den Untersuchungen von PRIANISCHNIKOFF (3) ergab sich, daß die Proteinverminderung bei der Keimung allmählich beginnt, dann eine namhafte Geschwindigkeit erreicht, so daß am 8. bis 10. Keimungstage 10—12 % der Gesamteiweißmenge binnen 24 Stunden verschwinden und daß sie sich schließlich wieder mehr und mehr verlangsamt. Wovon der Verlauf der Zerfallskurve bestimmt wird, ist noch nicht exakt erforscht. Daß die Temperatur auf die Form der Vorgangskurve großen Einfluß hat, konnte PRIANISCHNIKOFF (4) zeigen, welcher den Nachweis führte, daß es hier ein „Temperaturoptimum“ nicht gibt, sondern daß ähnlich wie bei der Atmung bis zur Tötungstemperatur ein Ansteigen der Zerfallsgeschwindigkeit des Eiweißes mit der Temperatur zu konstatieren ist. Erbsenkeimlinge zeigten binnen 8tägiger Keimung bei verschieden hoher Temperatur folgende Veränderungen des Eiweißgehaltes:

Bei:	22,5° C	28,0° C	35—36° C
Minus an Eiweiß . . .	14,01	20,28	22,00
Asparaginvermehrung . .	0,40	3,06	4,85

Der Einfluß von Temperatur und Licht in Verbindung mit der Ernährung durch N und Mineralstoffe bei Triticumkeimpflanzen wurde eingehend durch WASNIEWSKI (5) dargestellt. Licht begünstigt die Bildung der Eiweißstoffe um so mehr, in je weiteren Entwicklungsstadien sich die Keimlinge befinden.

Daß bei ätherisierten Keimlingen die Verminderung der Reserveproteide nicht soweit wie normal geht, hat ZALESKI (6) für Lupinus angustifolius gezeigt. Wenn der entsprechende Rückschluß aus den Beobachtungen ZALESKIS über die Verstärkung der Eiweißregeneration an ätherisierten Keimlingen bei künstlicher Kohlenhydratzufuhr gegenüber normalen Pflanzen erlaubt ist, so könnte man an eine Förderung der Eiweißregeneration durch die Ätherwirkung denken. Bei Darreichung von Coffein fand ZALESKI hingegen die Verminderung des Reserveproteins energischer vor sich gehend als normal. Terpene hemmen den Eiweißzerfall in der Keimung [LESCHTSCH (7)]. Die Wirkung von Sauerstoffabschluß auf den Prozeß der Eiweißverminderung in keimenden Samen findet sich, soweit unzureichende Lüftung in Betracht kommt, in

---

1) L. IWANOFF, Ber. botan. Ges., *20*, 366 (1902). Botan. Zentr., *101*, 488 (1906). — 2) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *25*, 213 (1907); *29*, 146 (1911). — 3) D. PRIANISCHNIKOFF, Landw. Vers.stat., *52*, (1899). — 4) PRIANISCHNIKOFF, Ber. bot. Ges., *18*, 285 (1900). — 5) S. WASNIEWSKI, Bull. Acad. Cracov. Juni 1914, p. 615. — 6) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *18*, 292 (1900). — 7) M. LESCHTSCH, Ebenda, *21*, 425 (1903).

den angeführten Arbeiten von SCHJERNING über den Eiweißumsatz bei der Keimung der Gerste berücksichtigt. Hier tritt unter solchen Verhältnissen eine ausgesprochene Hemmung der ganzen Vorgänge ein (1). Weniger starke Wirkungen scheinen in den Versuchen von PALLADIN (2) an grünen und etiolierten 2 Wochen alten abgeschnittenen Triticumkeimlingen vorhanden gewesen zu sein, wo die Eiweißverminderung unter bestimmten Bedingungen: Abwesenheit von Amiden und Kohlenhydraten, auch im O-freien Raume schon am 1. Tage eine beträchtliche war (8,2—14,4 %). Dabei wurde viel Tyrosin und Leucin, aber wenig Asparagin gebildet.

§ 2.

Proteolytische Enzyme in keimenden Samen.

Bereits 1874 gab GORUP BESANEZ (3) die Existenz eiweißlösender Enzyme für Cannabis, Linum und für gekeimte Gerste an; er fand das Glycerinextrakt aus diesen Samen befähigt Fibrinflöckchen zu lösen. In der Digestionsflüssigkeit war eine rote Biuretreaktion zu erzielen. Bei anderen Objekten: ungekeimte Gerste, Amygdalus, Pinus Pinea, Lupinus, konnte kein positives Ergebnis erhalten werden. Auch VAN DER HARST (4) berichtete über die Auffindung eines pepsinartig wirkenden Enzyms in Bohnenkeimlingen, doch konnte KRAUCH (5) diesen Befund nicht bestätigen. Später erweiterten JOHANNSEN (6) für das ruhende Weizenkorn, GREEN (7) für Cotyledonen von Lupinus und Ricinuskeimlinge die Reihe der positiven Befunde. GREEN wies in der Digestionsflüssigkeit (Glycerinextrakt aus Cotyledonen von Lupinus hirsutus) Fibrinlösung und Bildung von Leucin und Tyrosin nach; er fand die beste Wirkung bei 40° C und schwach saurer Reaktion (0,2 % HCl). Im ruhenden Samen existiert diesem Autor zufolge ein Proenzym, welches durch Säurewirkung leicht in das proteolytische Enzym überzuführen ist. Späterhin benutzte NEUMEISTER (8) zum Nachweise proteolytischer Enzyme in einer Reihe von Samen die Enzymspeicherung in Fibrinflöckchen. Er ließ frisches Fibrin einige Zeit im Keimlingssafte liegen und brachte die imprägnierten Flöckchen in 0,8 %ige Oxalsäure. Da in einer Anzahl von Fällen das Ergebnis ein negatives war und auch FRANKFURT (9) diese Versuche nicht in allen Punkten bestätigen konnte, so scheint diese Methode nicht immer zuverlässig zu sein. FERMI und BUSCALIONI (10) wiesen Enzyme in keimenden Samen mit ihrer Carbolgelatinemethode nach. Man gebrauchte auch in der Folge die BUCHNERsche Preßsaftmethode, mit Hilfe deren es GERET und HAHN (11) gelang, proteolytisches Enzym in Lupinenkeimlingen nachzuweisen. Schließlich wurde die autolytische Methodik erfolgreich angewendet. SOAVE (12) fand Eiweißhydrolyse bei chloroformierten keimenden Samen und schloß daraus auf die Gegenwart proteolytischer

1) H. SCHJERNING, Compt. rend., Carlsberg, *8*, 236 u. 330 (1910). — 2) W. PALLADIN, Ber. bot. Ges., *6*, 205, 296 (1888). Bot. Zentr., *39*, 23 (1889). — 3) GORUP BESANEZ u. H. WILL, Ber. chem. Ges., *7*, 1478 (1874). GORUP BESANEZ, Ebenda, *8*, 1510 (1875). — 4) L. J. VAN DER HARST, Justs Jahresber. (1876), II, 867. Biedermanns Centr. (1878), 582. — 5) C. KRAUCH. Landw. Vers.stat., *23*, 77 (1879); *27*, 383 (1882). — 6) W. JOHANNSEN, Justs Jahresber. (1886), I, 134. — 7) J. R. GREEN, Phil. Trans. Roy. Soc., *178*, 39 (1887). Proc. Roy. Soc., *41*, 466 (1886); *47*, 146 (1890); *48*, 370 (1891). — 8) R. NEUMEISTER, Ztsch. Biol., *30*, 447 (1894). — 9) S. FRANKFURT, Landw. Vers.stat., *47*, 466 (1896). — 10) CL. FERMI u. BUSCALIONI, Zentr. Bakt., II, *5*, 24 (1899). — 11) L. GERET u. M. HAHN, Ber. chem. Ges., *31*, 2335 (1898). — 12) M. SOAVE, Staz. Sper. agr. ital., *32*, 533 (1899).

Enzyme; BUTKEWITSCH (1) gelang es durch Digestion des gepulverten Keimlingsmateriales unter Thymolzusatz proteolytisches Enzym in Lupinus, Faba und Ricinus nachzuweisen, welches im Einklange mit älteren Beobachtungen bei Gegenwart geringer Mengen von organischen Säuren am besten wirkte. Aber schon 0,2 % HCl, andererseits auch 0,1 % Na_2CO_3 waren hemmend. Kleine Dosen von Blausäure schienen die Enzymwirkung zu fördern. Beim Digestionsgemisch aus Lupinus angustifolius dauerte die Proteolyse 12 Tage, wobei etwa 24 % des ursprünglich vorhanden gewesenen Eiweißes verschwanden. Wenn man die gepulverten Keimlinge mit Glycerin extrahiert und das Glycerinextrakt mit Alkohol fällt, so erhält man nach BUTKEWITSCH ein auf Conglutin wirksames Enzympräparat, welches in den Versuchen dieses Autors binnen 7 Tagen etwa 32 % des zugesetzten Conglutins in nicht koagulable N-haltige Stoffe zerlegte; unter diesen konnte Leucin und Tyrosin, nicht jedoch Asparagin nachgewiesen werden. Ob BUTKEWITSCH die optimalen Bedingungen beim Studium der Enzymwirkung innegehalten hat, ist mir zweifelhaft. Jedenfalls hat er aber in einer Reihe von Fällen ein tryptisches Keimlingsenzym sicher nachgewiesen.

Daß schon in ungekeimten Samen eiweißlösende Enzyme vorkommen können, hat man in neuerer Zeit besonders für die Cerealien- und die Leguminosensamen erwiesen (2). Nach SCURTI und PARROZZANI ist auch das Enzym aus ruhendem Samen von Croton tiglium ein richtiges Trypsin und bildet aus Eiweiß Aminosäuren. Neutrale Reaktion scheint im allgemeinen die besten Wirkungen zu gestatten, ebensogut meist schwach saure Reaktion. Dies scheint auch von dem bei der Autolyse von Fabasamen durch GRIMMER (3) nachgewiesenen tryptischen Enzym der Fall zu sein, ebenso bei dem tryptischen Enzym aus Hordeum und Avena. Der Nachweis von Tryptophan in gekeimtem Mais [VINES (4)] ist auf Gegenwart von Trypsin zu beziehen, zumal sich hier ähnlich wie bei Leguminosen eine Fibrin lösende Wirkung konstatieren ließ.

In neuerer Zeit ist man vielfach auf Enzymwirkungen bei Samen aufmerksam geworden, welche sich durch die alleinige Annahme tryptischer Fermente nicht erklären lassen. So fand VINES (5), daß man aus Cannabissamen, die wie Ölsamen überhaupt, viel aktivere Enzympräparate liefern als Stärkesamen, durch Extraktion mit Natriumchloridlösung einen Auszug gewinnt, der kräftig auf Eiweiß wirkt, ohne Aminosäuren zu bilden, während das Wasserextrakt eine mehr peptische Wirkung hat. SCURTI gab auch vom Viciasamen ein rein peptolytisches Enzym an. Andererseits wurde mehrfach von ereptischen Samenenzymen berichtet. DEAN (6) fand bei Phaseolus in allen Keimungsstadien ein Enzym, welches Albumosen leicht in Aminosäuren überführt, aber auf die Reserveproteide des Samens nicht einwirkt. Es ist natürlich nicht nötig, mit diesem Autor an „Protoplasmawirkungen" hinsichtlich der Lösung der Samenproteide zu denken, da offenbar Endoenzyme im Spiele sein können, die sich vom Plasma nicht durch Extraktion abtrennen lassen.

---

1) WL. BUTKEWITSCH, Ber. bot. Ges., *18*, 185 (1900). Ztsch. physiol. Chem., *32*, 1 (1901). — 2) H. ARON u. P. KLEMPIN, Biochem. Ztsch., *9*, 163 (1908). A. BRIGHENTI, Arch. di Fisiol., *10*, 212 u. 233 (1912). [Negative Befunde hingegen bei A. PUGLIESE, Ebenda, 292]. J. SCURTI u. A. PARROZZANI, Gazz. chim. ital., *37*, I, 488 (1907). R. GIESEN, Diss. Bern (1909). — 3) W. GRIMMER, Biochem. Ztsch., *4*, 80 (1907). — 4) S. H. VINES, Ann. of Bot.. *20*, 113 (1906). — 5) VINES, Ebenda, *22*, 103 (1908). — 6) A. L. DEAN, Botan. Gaz., *39*, 321; *40*, 121 (1905).

BAILEY (1) berichtet von einem Erepsin aus Bananenfrüchten, JACOBSON (2) von einem solchen aus Samen von Medicago sativa. Auch die Frage der Einwirkung von Samenenzymen auf künstlich gewonnene Polypeptide ist durch ABDERHALDEN (3) verfolgt worden. Während ungekeimte Samen meist keinen wirksamen Preßsaft lieferten, spaltete der Preßsaft aus Keimlingen von Lupinus, Triticum, Zea, Hordeum stets Glycyl-l-Glycin, Leucylglycin oder Dialanylcystin.

Mit dem Malzenzym hat man sich von vielen Seiten befaßt. Nachdem 1883 MICHEL (4) nach den ersten Angaben von GORUP BESANEZ dasselbe studiert hatte, LASZYNSKI und LOÉ (5) nur negative Ergebnisse aufzuweisen hatten, zeigten FERNBACH und HUBERT (6) die Gegenwart eines Gelatine verflüssigenden Enzyms im Malz dadurch, daß sie im Chamberland-Filtrat die proteolytische Wirkung sicherstellten und aus diesem Filtrat die wirksame Substanz durch Alkoholfällung abtrennten. WINDISCH und SCHELLHORN (7) bestätigten die proteolytische Wirkung des Malzauszuges, sowie die Möglichkeit, daraus nach der WITTICHschen Methode ein Enzympräparat zu gewinnen.

Die Behauptung von WINDISCH, daß das Malzenzym am besten in schwach alkalischer Reaktion wirke, wurde durch WEIS (8) und LINTNER (9) widerlegt; das Optimum liegt bei schwach saurer Reaktion. Nach den genauen Ermittelungen von SCHJERNING (10) wird der Maximaleffekt bei einer H-Ionenkonzentration von $0{,}122 \times 10^{-5}$ ($p_H = 5{,}8$) erreicht; der minimale Effekt endet bei Konzentrationen unterhalb $0{,}122 \times 10^{-6}$ ($p_H = 6{,}8$). Doch ist die Wirkung auf die peptolytische Aktion immer größer als diejenige auf die tryptische. Verschiedene Forscher, unter ihnen besonders VINES (11) und WEIS, haben auch hier angenommen, daß zwei Enzyme zugegen seien, eine Peptase, welche die nativen Proteine angreift und ein Erepsin. Nach COURT (12) würde es sich bei der keimenden Gerste um Nebeneinanderwirken zweier Enzyme handeln, von denen eines leicht extrahierbar, das andere ein Endoenzym ist. Auch die Temperaturkurven beider Enzyme, die übrigens auch von Ananasfrüchten, Pilzen, angegeben wurden, sollen verschieden sein. Im ungekeimten Gerstenkorn scheint nach WEIS ein Proenzym vorzukommen. Während der Keimung konnte WEIS die ersten 3 Tage hindurch keine proteolytische Wirkung finden; erst am 4. Tage trat sie sehr stark auf

1) E. M. BAILEY, Journ. Am. Chem. Soc., *34*, 1706 (1912). — 2) C. J. JACOBSON, Ebenda, p. 1730. — 3) K. DAMMHAHN, Diss. Gießen (1909); E. ABDERHALDEN u. DAMMHAHN, Ztsch. physiol. Chem., *57*, 332 (1908); ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM, Ebenda, *49*, 26 (1906). Ferner S. IVANOW, Beiheft. bot. Zentr., *29*, I, 144 (1912). — 4) MICHEL, Flora (1883), p. 360. — 5) B. DE VERBNO LASZCYNSKI, Ztsch. ges. Brauwes., *22*, 71, 83, 140 (1899); W. LOÉ, Ebenda, *22*, 212 (1899). — 6) A. FERNBACH u. L. HUBERT, Compt. rend., *130*, 1783; *131*, 293 (1900); P. PETIT u. G. LABOURASSE, Ebenda, *131*, 349 (1900). V. HARLAY, Ebenda, p. 623. — 7) W. WINDISCH u. SCHELLHORN, Woch.schr. f. Brauerei (1900), Heft 24—29. WINDISCH, Ebenda, *29*, 698 (1902). — 8) FR. WEIS, Ztsch. physiol. Chem., *31*, 79 (1900); Ztsch. ges. Brauwes., *26*, 301 (1902). Compt. rend. Carlsberg, *5*, 133 (1903). Dort auch frühere noch unveröffentlichte Befunde von KJELDAHL. PH. SCHIDROWITZ, Chem. Zentr. (1904), I, 105. Zentr. Bakt., II, *12*, 471 (1904). — 9) J. C. LINTNER, Ztsch. ges. Brauwes., *25*, 365 (1902). Vgl. auch R. WAHL, Journ. Ind. and Eng. Chem., *5*, 752 (1913). Orig. Com. 8th Int. Congr. Appl. Chem., *14*, 215 (1912) über günstige Wirkung von Milchsäure. — 10) H. SCHJERNING, Compt. rend. Carlsberg, *9*, 319 (1913). — 11) S. H. VINES, Ann. of Bot., *24*, 213 (1910). Vgl. auch BOKORNY, Pflüg. Arch., *90*, 94 (1902). Die Angaben von A. NILSON, Journ. Am. Chem. Soc. (1904), p. 289 über Keimungsproteolyse sind unkritisch. — 12) D. COURT, Proc. Edinburgh. Soc., *32*, 252; *34*, 113 (1914).

und erreichte am 6. Tage ihr Maximum. Wo das Enzym im Samen gebildet wird, ließ sich bisher noch nicht eruieren. Beim Eintritt lebhafter Proteolyse zeigen sich an den Aleuronzellen nach BROWN und MORRIS (1) noch keine Veränderungen, sondern die Aleuronkörner verlieren erst ihre regelmäßige Form und werden durchsichtig, wenn der Blattkeim 4—5 mm lang geworden ist. Die Stärkekörner werden jedenfalls viel früher aufgelöst. In der zitierten Arbeit von WEIS und bei SCHJERNING finden sich auch zahlreiche Angaben über die Abhängigkeit der Malzenzymwirkung von der Temperatur, Fermentkonzentration und Eiweißkonzentration, und über fördernde und hemmende Zusatzstoffe (2). Die optimale Temperatur für die peptische Wirkung liegt bei 55°, um etwa 10° höher als das Optimum für die tryptische Wirkung (3). Erwähnt seien ferner Befunde der Untersuchungen von WEIS, welche darauf hindeuten, daß ein Klebergerinnung erzeugendes Enzym im Malz vorliegen könnte. Doch ist kaum beizupflichten, wenn WEIS dieses Enzym als „Lab" bezeichnet.

Eine vollständige Untersuchung der durch die proteolytischen Keimlingsenzyme gelieferten Spaltungsprodukte ist in keinem Falle geliefert worden. WEIS fand, daß die Spaltung bis zu Proteosen und Peptonen durch das Malzenzym relativ rasch vor sich geht, während der übrige Prozeß einen langsameren Verlauf nimmt. Danach würde das Malzenzym in der Mitte stehen zwischen Pepsinwirkung und Trypsinwirkung, wenn es nicht ein Gemisch in dem oben angedeuteten Sinne ist.

Übrigens ist auch für die besser gekannten anderweitigen proteolytischen Pflanzenenzyme: das von WITTMACK, WURTZ und BOUCHUT zuerst genauer untersuchte Enzym der Frucht von Carica Papaya, welches als Papayotin oder Papain im Handel ist (4), noch weniger für das Bromelin der Ananasfrucht (5) und andere Enzyme: Cucumis utilissima (6), Anagallis (7), Lolium temulentum (8), Ecballium elaterium (9), Cocos nucifera (10) u. a. m., die chemische Wirkung erst ungenau bekannt. Nach VINES (11) ist vielleicht auch das Papain des Handels als ein Gemisch peptischer und ereptischer Enzyme aufzufassen. Für das Papain scheint neutrale oder schwach alkalische Reaktion günstiger zu wirken als saure (12); für Bromelin gilt dasselbe (13). Die Wirkung von Papain auf Eiweiß dürfte im wesentlichen mit der Trypsinwirkung übereinstimmen (14), doch fand EMMERLING sehr erhebliche Mengen von Albumosen und

---

1) BROWN u. MORRIS, Journ. Chem. Soc., *57*, 458 (1890). — 2) Vgl. auch L. ADLER, Ztsch. ges. Brauwes., *38*, 129 (1915). SWANSON u. TAGUE, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1098 (1916). A. BAUMANN, Ztsch. ges. Brauwes., *39*, 363 (1916). — Reiskleie: F. KELLER, Diss. Erlangen 1914. — Bestimmung der proteolytischen Kraft: NOWAK, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 858 (1915). — 3) SCHJERNING, l. c., p. 300; Über Darrmalz auch M. KRANDAUER, Ztsch. ges. Brauwes., *28*, 449 (1905). — 4) Papaindarstellung: Fr. DAVIS, Pharm. Journ. Tr., *53*, 207 (1893). — 5) Bromelin: CHITTENDEN, Journ. of Physiol., *15*, 249 (1883). KAYSER, Ann. Inst. Pasteur, *5* (1891). — 6) GREEN, Ann. of Bot., *6*, 195 (1892). Cucurbitakeimlinge: A. L. DEAN, Bot. Gaz., *39*, 321 (1905). — 7) G. DACCOMO u. TOMMASOLI, Chem. Zentr. (1892), II, 532. — 8) M. JAVILLIER, Compt. rend., *136*, 1013 (1903). — 9) A. BERG, Ebenda, *145*, 370 (1912). — 10) E. DE KRUYFF, Bull. Dép. Agr. Ind. Néerl., *4* (1907). — 11) S. H. VINES, Ann. of Bot., *19*, 149 (1905). — 12) FR. SACHS, Ztsch. physiol. Chem., *51*, 488 (1907). J. R. RIPPETOE, Journ. Ind. Eng. Chem. (1912), p. 517; RIDEAL, Pharm. Journ. Trans., *54*, 189 (1894). MARTIN, Journ. of Physiol., *5*, 220. — 13) J. S. CALDWELL, Bot. Gaz., *39*, 407 (1905). — 14) O. EMMERLING, Ber. chem. Ges., *35*, 695 (1902). KUTSCHER u. LOHMANN, Ztsch. physiol. Chem., *46*, 383 (1905). Über Unterschiede gegenüber trypt. Spaltung: L. B. MENDEL u. P. UNDERHILL, Zentr. Physiol. (1901), 689; Botan. Zentr., *92*, 62 (1903).

Pepton bei der Papainhydrolyse. Erwähnt sei noch ein proteolytisches Enzym aus Nicotianasprossen, das MOSCA (1) angab.

Daß die proteolytischen Wirkungen bei der Keimung durch Sauerstoffentziehung nur mittelbar beeinflußt werden können, geht aus den Versuchen von PALLADIN und KRAULE (2) hervor. Die Autolyse ist im Gegenteil reichlicher bei Sauerstoffabschluß. Durch Gefrierenlassen der Pflanzen zerstört man die proteolytischen Enzyme nicht (3). In den so abgetöteten Pflanzen kann man nach PALLADIN (4) beobachten, daß hier zutagetretende oxydierende Wirkungen, die in lebenden Pflanzen fehlen, hemmende Einflüsse entfalten. Auch Saccharosezusatz schwächte in manchen Fällen ab. Näherer Untersuchung bedarf es noch, inwieweit Lichtwirkungen die Arbeit proteolytischer Enzyme in lebenden Zellen beeinflussen (5). Schließlich sei noch erwähnt, daß man nach Applikation von Trypsinlösung auf Keimlinge von Zea und Helianthus und Phaseolus eine Förderung des Wachstums beobachtet hat, ohne daß sichergestellt wäre, welcher Faktor hier eigentlich die Hauptrolle spielt (6).

Gänzlich unbekannt ist die Rolle der anscheinend bei Phanerogamen weit verbreitet vorkommenden Milchcasein labender Enzyme, wie sie durch SHERIDAN LEA (7) in Withania coagulans, von JAVILLIER (8) in sehr vielen krautigen Teilen von Pflanzen aus verschiedenen Familien, wie Lolium temulentum, Anthriscus, Lamium, Capsella, Plantago, Philadelphus, Medicago, Geranium, Ranunculus, gefunden wurden. Wir haben von diesen Vorkommnissen bereits in Kap. 34 § 6 ausführlicher gehandelt.

§ 3.

Die Abbauprodukte der Reserveproteide bei der Keimung von Samen.

Obgleich wir nach dem eben dargelegten Tatsachenmaterial an dem allgemeinen Vorhandensein proteolytischer Enzyme in keimenden Samen nicht zweifeln können, so stößt doch ein Vergleich der in etiolierten Keimpflanzen auf Kosten der Reserveproteide gebildeten Produkte mit denjenigen Substanzen, welche bei künstlicher Proteolyse durch Säuren oder Enzyme aus jenen Proteiden erhalten werden, auf große Differenzen. Dafür liefern ausgedehnte Erfahrungen von E. SCHULZE und dessen Mitarbeitern u. a. Forschern hinreichende Beweise. Ferner wissen wir, daß die Zusammensetzung des Gemisches der Abbaustoffe eine wesentlich andere wird, wenn die Keimlinge nicht unter normalen Bedingungen gehalten werden. Nach PALLADIN kann die sonst massenhaft stattfindende Ablagerung von Asparagin in Leguminosenkeimlingen unterbleiben, wenn die Pflanzen unter Sauerstoffabschluß gehalten werden. Es treten statt dessen Leucin und Tyrosin auf. Ob dem immer so ist, bedarf noch der Feststellung. CLAUSEN sowie ZIEGENBEIN geben an (9), daß

---

1) F. TR. MOSCA, Gazz. chim. ital., *43*, II, 445 (1913). — 2) W. PALLADIN u. G. KRAULE, Biochem. Ztsch., *39*, 290 (1912). — 3) J. KOVCHOFF, Ber. bot. Ges., *25*, 173 (1907). — 4) W. PALLADIN, Biochem. Ztsch., *44*, 318 (1912); PALLADIN, ALEXANDROW, IWANOW, Bull. Ac. Imp. Sci. (1912), p. 677. — 5) E. LEHMANN u. A. OTTENWÄLDLER, Ztsch. Botan., *5*, 338 (1913). — 6) Vgl. N. STRUIEW, Schweiz. Woch.schr., *50*, 433 (1912). — 7) SHER. LEA, Journ. Pharm. et Chim. (5), *11*, 563 (1885). — 8) M. JAVILLIER, Compt. rend., *134*, 1373 (1902). Contrib. à l'étude de la Présure chez les végét., Paris 1903. Vgl. die p. 78 zit. Arbeiten von C. GERBER. — 9) CLAUSEN, Landw. Jahrb., *19*, 915 (1890). SCHULZE, Ebenda, *21*, 105 (1892); ZIEGENBEIN, Jahrb. wiss. Botan., *25*, 564 (1893).

Asparaginbildung auch in Wasserstoffatmosphäre reichlich zu beobachten sei. Bei etiolierter Gerste und Sojabohne fand SUZUKI (1) ebenfalls, daß bei Sauerstoffabschluß wohl die Eiweißspaltung erfolgt, Asparagin jedoch nur bei Sauerstoffgegenwart eine Zunahme erfährt. Welche Bedeutung die von PALLADIN (2) beobachtete anaerobe Bildung von Aceton besitzt, die bei Triticumkeimen hervortritt, und welche mit dem Umsatz von Leucin in Zusammenhang gebracht worden ist, läßt sich gleichfalls nicht sagen. Es sei nur darauf hingewiesen, daß Acetonbildung auch im aeroben Leben bei unreifen Passiflorasamen und Fruchtschalen durch SACK (3) angegeben worden ist, wo Aceton neben Blausäure vorkommt. Ferner ist hinsichtlich des Tyrosinumsatzes durch BERTEL (4) eine Reihe von Tatsachen gefunden worden, die darauf hinweisen, daß der Umsatz bei Sauerstoffmangel in anderen Bahnen läuft als im normalen Leben. Diese Erfahrungen sind von besonderem Interesse, da die Chloroformnarkose ganz analoge Wirkungen hervorrief, wie Aufenthalt im luftverdünnten Raume. Ist dieses Tatsachenmaterial noch einer genauen Durcharbeitung wert, so gilt dasselbe von der Wirkung der Blausäure auf den Eiweißumsatz, über den wir aus tierphysiologischen Erfahrungen (5) so viel wissen, daß hierbei ein gesteigerter Eiweißzerfall unter reichlicher Bildung amidartiger Zwischenprodukte unterläuft. Auf botanischem Gebiete sind diese Einblicke noch gänzlich unausgenutzt geblieben.

Alle diese Vorkommnisse wird man aber schon jetzt kaum anders verstehen können, als daß konform den Ausführungen von E. SCHULZE (6) die in lebenden Keimlingen vorhandenen Stickstoffverbindungen nicht unmittelbar sämtlich durch die Eiweißhydrolyse geliefert sind, sondern daß die Zusammensetzung dieser Gruppierung ebenso sehr mitbestimmt wird durch den sich direkt an die proteolytische Spaltung anschließenden Verbrauch der primär gebildeten Produkte, sowie durch deren verschiedenfache Veränderungen und Umsetzungen. Dabei hat man an desamidierende, Kohlensäure abspaltende, oxydierende und reduzierende Fermentwirkungen zu denken, die nach Bildung der Eiweißspaltungsprodukte dieselben unmittelbar verändern.

Man darf daher nicht erwarten, selbst in Autolysenversuchen, jemals die hydrolytischen Endprodukte der Eiweißspaltung völlig unverändert wiederzufinden, da stets Enzyme zugegen sind, welche Aminosäuren usw. weiter verändern können. Ein gutes Beispiel hierfür liefert der durch BERTEL näher verfolgte Tyrosinabbau in Lupinenkeimlingen, wobei sich feststellen läßt, wie das Tyrosin während der Autolyse unter Anhäufung stark reduzierender Stoffe allmählich verschwindet, und diese Veränderung an normalen Dunkelpflanzen nur deshalb nicht zustandekommt, weil auch jene reduzierenden Stoffe auf oxydativem Wege rasch weiterverändert werden. Ohne Rücksichtnahme auf die an die Eiweißhydrolyse sich anschließenden Prozesse läßt sich demnach der Eiweißabbau in Keimlingen nicht verstehen. Zur Zeit wissen wir noch wenig von dem Schicksale, dem die primären Hydratationsprodukte, wahrscheinlich oft ungemein rasch, verfallen. So fand man bisher in Keimlingen kein

---

1) SUZUKI, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 351 (1902); Landw. Jahrb., *30*, 287 (1901). Vgl. auch BUTKEWITSCH, zit. bei PRIANISCHNIKOW, Ber. bot. Ges., *22*, 43 (1904). — 2) W. PALLADIN u. KOSTYTSCHEW, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 214 (1906). — 3) J. SACK, Pharm. Weekbl., *48*, 307 (1911). — 4) R. BERTEL, Ber. botan. Ges., *20*, 454 (1902). — 5) Vgl. A. LOEWY, Zentr. Physiol. (1905), p. 857; Biochem. Ztsch., *3*, 439 (1907); *8*, 132 (1908). — 6) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 70; *26*, 411 (1898); *30*, 241 (1900); *38*, 199 (1903). Ber. bot. Ges., *18*, 36 (1900).

Alanin auf, obwohl dasselbe sicher primär gebildet werden muß. Man wird sich aber auch stets zu vergegenwärtigen haben, daß nicht das ganze Quantum einer jeden Aminosäure, welche aus chemischen Gründen ein primäres proteolytisches Produkt in der Keimung sein kann, auch wirklich ganz oder partiell als primäres Produkt aufzufassen ist. Wir haben im Asparagin ein deutliches Beispiel dafür, daß es in Keimpflanzen auch sekundär gebildete Aminosäuren gibt. Oft mag auch, wie es in der Tierphysiologie besser sichergestellt ist, durch Desamidierung ein proteolytisches Produkt rasch in Kohlenhydrate übergeführt werden (1). Sehr wenig ist die interessante Frage berührt worden, wie sich der Eiweißumsatz in der Keimung bei Zufuhr von Stickstoffverbindungen, besonders Nitraten oder Ammoniumsalzen, stellt. ZALESKI (2) sah, daß Kalium- und Calciumnitrat den Eiweißumsatz fördert, während HANNIG (3) bei Cruciferenkeimlingen in künstlicher Kultur isolierter Embryonen wohl die Aufnahme von Nitrat, nicht jedoch dessen Verarbeitung zu Eiweiß sicherstellen konnte.

Die Reihe der in Keimpflanzen vorhandenen und noch aufzusuchenden Eiweißderivate durchlaufend, werfen wir zunächst die Frage auf, ob es gelingt, in Keimlingen Proteosen und Peptone nachzuweisen. Daß OSBORNE und CAMPBELL in ruhenden Samen häufig kleine Mengen von Proteosen aufgefunden haben, von denen nicht sicher steht, ob sie nicht erst durch die vorgenommenen Operationen abgespalten wurden, wurde bereits erwähnt. Auch die Angabe von LEMPORT (4) über Peptonvorkommen in süßen Mandeln ist fraglich. Nachforschungen über die Bildung von Proteosen und Peptonen bei der Keimung haben bereits GRIESSMAYER, SCHULZE und BARBIERI, SZYMANSKI (5) angestellt und über positive Ergebnisse berichtet, wogegen KRAUCH sowie WILFARTH (6) nach solchen Stoffen vergeblich suchten. NEUMEISTER (7) berichtete wieder über gelungene Versuche, in Keimlingen gewisse Mengen von Substanzen nachzuweisen, die mit Ammoniumsulfat nicht auszusalzen sind und rote Biuretreaktion geben. Besonders ist auch den Arbeiten über Malzproteolyse, wie sie SCHJERNING in großem Umfange angestellt hat, zu entnehmen, daß intermediäre Bildung von Proteosen und Peptonen unleugbar stattfindet, wenn auch diese Stoffe sehr schnell weiter abgebaut werden. Genauere Untersuchungen über die Keimungsproteosen sind aber noch sehr erwünscht. SUZUKI (8) berichtete über das Ansteigen von Pepton, Monamino- und Diaminostickstoff bei der Keimung von Phaseolus lunatus. CAVAZZANI und MANICARDI (9) haben für Pisumkeimlinge die Existenz jener mit Phosphorsäure gepaarten peptonartigen Verbindungen nachzuweisen gesucht, die SIEGFRIED (10) als Phosphorfleischsäure aus Muskel darstellte und deren Eisenverbindungen als Carniferrin beschrieben ist. Diese „Nucleone“, wie die genannten Forscher jene Verbindungen bezeichneten, sollen sich in belichteten Keimlingen

---

1) Zuckerbildung aus Eiweiß im Tier: L. MOHR, Ztsch. exp. Pathol. u. Ther., *2*, 467 (1905). — 2) W. ZALESKI u. W. ISRAILSKY, Biochem. Ztsch., *24*, 14 (1910). — 3) E. HANNIG, Botan. Ztg., *65*, I, 39 (1907). — 4) E. LEMPORT, Chem. Zentr. (1897), II, 979. — 5) V. GRIESSMAYER, Ber. chem. Ges., *10*, 617 (1877). E. SCHULZE u. BARBIERI, Journ. f. Landw., *29*, 285 (1881). SCHULZE, Landw. Jahrb. (1883), p. 909. F. SZYMANSKI, Monatsh. Chem., *5*, 667; Landw. Vers.stat., *32*, 389; Ber. chem. Ges., *18*, 492 u. 1371 (1885). — 6) KRAUCH, Landw. Vers.stat., *23*, 77; *27*, 383; WILFARTH, zit. bei SCHULZE, Ebenda, *33*, 126. — 7) R. NEUMEISTER, Ztsch. f. Biol., *30*, 447 (1894); vgl. auch TH. BOKORNY, Pflüg. Arch., *80*, 48 (1900). — 8) SH. SUZUKI, Journ. biol. Chem., *3*, 265 (1907). — 9) C. MANICARDI, Malpighia, *19*, 81 (1905). — 10) M. SIEGFRIED, Ber. chem. Ges., *27*, 2762 (1894).

anhäufen, bei der Keimung im Dunkeln aber tiefgreifend verändert werden. Es unterliegt wohl kaum einem Zweifel, daß hier dieselbe Erscheinung vorliegt, die vom Nucleinumsatz bereits lange bekannt ist, und durch ZALESKI ausführlich bearbeitet worden ist.

Die bezüglich der Aminosäuren von Keimlingen meiner Meinung nach leitenden Prinzipien sind damit dargelegt. Folglich kann die von E. SCHULZE (1) aufgestellte Forderung, daß die Eiweißspaltung bei der Keimung dieselben primären Produkte liefern müsse wie die künstliche Hydrolyse, wenigstens praktisch nie nachgewiesen werden, da sich sofort sekundäre Vorgänge der verschiedensten Art, die fast gar nicht exakt erforscht sind, anschließen. Der erste Schritt zur Erklärung dieser verwickelten Verhältnisse darf wohl in der Feststellung von PFEFFER (2) gesehen werden, daß die oft gewaltige Anhäufung von Asparagin in Dunkelkeimlingen damit zusammenhängt, daß den Pflanzen nicht genügend Kohlenhydrate zur Eiweißregeneration zur Verfügung stehen und ihnen das Licht als Mittel zur Beschaffung derselben fehlt. Die von SCHULZE (3) anfänglich geäußerte Ansicht, daß sich Asparagin deshalb anhäufe, weil es bei der Eiweißregeneration langsamer als andere Aminoverbindungen verbraucht werde, ist als unhaltbar von ihrem Autor selbst aufgegeben worden. Wohl kommt aber nach den neuerdings durch PRIANISCHNIKOFF (4) erwogenen Gesichtspunkten die Möglichkeit hinzu, daß eine Asparaginsynthese in der Pflanze eintritt, wenn ein gewisser Überschuß an Ammoniak, sei es von außen durch die Wurzel aufgenommen, sei es durch Desamidierungen in der Pflanze gebildet, vorhanden ist, und gleichzeitig genügend Kohlenstoffverbindungen zu derartigen Vorgängen zur Verfügung stehen. Wenigstens sah der genannte Forscher bei Hordeum und Cucurbita Asparaginanreicherung deutlich eintreten, sobald Ammoniak-N reichlich zur Verfügung stand. Übrigens haben O. LOEW und SUZUKI schon früher an diese Möglichkeiten gedacht.

SCHULZE (5) verdanken wir interessante Untersuchungen darüber, wie das Aminosäuregemisch in Keimpflanzen verschiedenen Alters beschaffen ist; dabei hat man allerdings zu bedenken, daß die seither erheblich verbesserte Methodik namhafte Modifikationen an diesen Ergebnissen vorzunehmen hätte. SCHULZE und CASTORO fanden in ungekeimten Samen nur geringe Mengen von Amino- und Diaminosäuren. An Arginin wurde in Lupinus luteus dennoch 0,36% gefunden. 6—7 Tage alte Vicia sativa enthielt im Freien erzogen: Tyrosin, Leucin, Histidin, Lysin, Arginin (0,23%), Asparagin (1,84%). Verdunkelte Pflanzen boten fast den gleichen Befund. 3½ Wochen alte etiolierte Pflanzen enthielten kein Tyrosin, jedoch Phenylalanin, Aminovaleriansäure, Leucin, Histidin, Lysin und kein Arginin; ferner Guanidin, 12,4% Asparagin, Glutamin. 6—7tägiges Pisum sativum etioliert enthielt: Tyrosin, Leucin, Phenylalanin, Histidin, Lysin und Arginin. 6tägige Lupinus albus etioliert enthielten Asparagin, Leucin, Tyrosin, 0,3% Arginin, Histidin; 6tägige weiße Lupine im Freien: Tyrosin, Leucin,

---

1) E. SCHULZE, Botan. Ztg. (1879), p. 213. Landw. Jahrb., *9*, 1 (1880). Biedermanns Zentr. (1880), p. 907. Journ. f. Landw., *52*, 305 (1904). — 2) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Botan., *8*, 548 (1872). — 3) E. SCHULZE, Landw. Jahrb., *7*, 411 (1878); *9*, 1 (1880). Ztsch. physiol. Chem., *22*, 433 (1894). Ber. bot. Ges., *25*, 213 (1907). — 4) D. PRIANISCHNIKOFF u. J. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *28*, 253 (1910). Russ. Journ. f. exp. Landw., *13*, Heft 5 (1912). Rev. gén. Bot., *25*, 5 (1913). — 5) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 241 (1900). SCHULZE u. N. CASTORO, Ebenda, *38*, 199 (1903).

Aminovaleriansäure, Arginin, Lysin und Histidin. Im ganzen enthielten 2—3wöchentliche Keimlinge Leucin, viel Asparagin und kein Tyrosin.

Die oft namhaften Differenzen des Aminosäurengemisches im Extrakte von Keimlingen verschiedener Pflanzen müssen dem Gesagten zufolge nicht von einer differenten Natur der Reserveproteide herrühren, sondern werden in ihrem Vorkommen auch von Verschiedenheiten der sich sekundär anschließenden Vorgänge bestimmt, was möglicherweise für den Endeffekt besonders ausschlaggebend wirkt. Es ist demnach keineswegs nötig mit manchen Forschern (1) anzunehmen, daß die primäre Aufspaltung des Eiweißes nach total verschiedenen Richtungen verlaufen kann, und die einzelnen Produkte der Spaltung aus diesem Grunde nicht immer gleich ausfallen. Überdies lassen sich derartige Anschauungen mit den gut begründeten Hypothesen der Eiweißchemie nicht in Einklang bringen.

Die einzelnen bisher in Keimlingen nachgewiesenen Aminosäuren sind folgende:

1. Phenylalanin. Wurde von SCHULZE und BARBIERI (2) in den Achsenorganen, weniger in den Cotyledonen von Lupinus luteus (1881) zuerst aufgefunden, späterhin auch in Lupinus albus (3), Glycine hispida (4), Vicia sativa (5), Phaseolus (6) und Cucurbitakeimlingen (7) von SCHULZE, und seinen Mitarbeitern konstatiert. Es handelt sich um das bei der Eiweißhydrolyse entstehende l-Phenylalanin. Die Phenylalaninkupferverbindung hat 16,15% Cu; sie krystallisiert aus der Lösung von Phenylalanin mit $Cu(OH)_2$ aus. Bei der trockenen Destillation entsteht Phenyläthylamin. Mit Chromsäuremischung erhitzt gibt Phenylalanin Benzaldehydgeruch (8). Nach SCHULZE liefern etiolierte Keimlinge der weißen Lupine mehr Phenylalanin als grüne Pflanzen. Die Mengen dieser Aminosäure sind stets nur gering gefunden worden; sehr kleine Quantitäten von Phenylalanin wurden wahrscheinlich oft übersehen. Über das weitere Schicksal des Phenylalanins in Keimpflanzen vergleiche weiter unten.

2. Dioxyphenylalanin wurde 1913 durch GUGGENHEIM (9) aus den Fruchtschalen von Vicia faba isoliert, und ist offenbar identisch mit der durch TORQUATI (10) aus derselben Pflanze gewonnenen aromatischen N-haltigen Substanz. Sonst ist sie in der Natur noch nicht gefunden, doch vielleicht nur übersehen oder verwechselt. Charakteristisch sind die Eisenreaktionen welche mit jenen des Brenzcatechins identisch sind: in schwach saurer

---

1) Vgl. W. PFEFFER, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., I, 464 (1897). PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *46*, 450 (1896) ließ es unentschieden, ob bei der Keimung echte Eiweißhydrolyse stattfindet. Eine eigentümliche Auffassung der sekundären Asparaginbildung, für welche sich zwingende Gründe aber nicht geben lassen, hat O. LOEW (Jahresber. Agrik. Chem. (1889), p. 113; vgl. auch E. SCHULZE, Landw. Jahrb., *21*, 105 (1892) geäußert. Wenig begründet sind ferner die Ansichten bei J. STOKLASA, Ztsch. physiol. Chem., *25*, 398. — 2) E. SCHULZE u. BARBIERI, Ber. chem. Ges., *14*, 1785 (1881). SCHULZE, Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884); SCHULZE u. BARBIERI, Journ. prakt. Chem., *27*, 337 (1883) über Darstellung; SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 201 (1887). — 3) SCHULZE, Ebenda, *20*, 306; *22*, 422 (1896). SCHULZE u. N. CASTORO, Ebenda, *38*, 199 (1903); N. J. WASSILIEFF, Landw. Vser.stat., *55*, 45 (1901). — 4) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *12*, 405 (1888). — 5) SCHULZE, Ebenda, *17*, 208 (1892). SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ebenda, *45*, 38 (1905). — 6) A. MENOZZI, Rend. Acc. Linc. (1), *4*, 149 (1888). — 7) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *16*, 1711 (1883). — 8) Über Phenylalanin noch SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 85; SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ebenda, *35*, 307 (1902). E. FISCHER, Ber. chem. Ges., *33*, 2385 (1900). SÖRENSEN, Compt. rend. Carlsberg, *6*, Heft 1 (1903). — 9) M. GUGGENHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 276 (1913). Verh. Naturf. Ges. 1913, II, *1*, 309. — 10) T. TORQUATI, Chem.-Ztg., *37*, 456 (1913). Arch. Farm. Sper., *15*, 213, 308 (1913).

oder neutraler Lösung Grünfärbung, bei vorsichtigem Zufügen von Alkali violetter Farbenumschlag. Ferner starke Ag-Reduktion in der Kälte. Die Formel entspricht dem Schema $OH(OH)C_6H_3—CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$. Es handelt sich um die l-Modifikation. Da Dioxyphenylalanin noch nicht als Eiweißspaltungsprodukt bekannt ist, wird es um so wahrscheinlicher, daß die Verbindung sekundär aus Phenylalanin oder Tyrosin im Stoffwechsel durch Oxydation hervorgeht.

3. Tyrosin; von GORUP BESANEZ (1) zuerst aus Viciakeimlingen dargestellt. Es ist augenscheinlich in Keimlingen allgemein in variabler Menge vorhanden. Von Cucurbitakeimlingen (2), etiolierten und grünen Lupinus luteus (3) und Lupinus albus (4) wird es ausdrücklich angegeben; ferner ist sein Vorkommen bekannt von Dahlia variabilis, anscheinend in allen Teilen sehr reichlich (5), im Safte der Sambucusbeeren (6) und im Wiesenklee (7), wenn wir auch die Angaben bezüglich erwachsener Pflanzen hier kurz einschalten. SCHULZE und BARBIERI erhielten aus 50—60 g trockener Kürbiskeimlinge entsprechend 1 kg Frischsubstanz, 0,15 g Tyrosin. Die auffällig verschieden lautenden Angaben von SCHULZE, BELZUNG, BERTEL (8) über gefundene Tyrosinquantitäten dürften vielleicht in dem raschen Übergange des Tyrosins in stickstoffreie Oxydationsprodukte reduzierender Natur verständlicher werden, zumal bisher nicht darauf geachtet worden ist, bestimmte Kulturbedingungen genau einzuhalten und anzugeben. Tyrosin ist leicht zu erkennen und aufzufinden. Es fällt aus dem wässerigen Decoct des Materiales beim Erkalten zum großen Teile aus, und kann nach HOFMEISTER (9) aus ammoniakalischem Weingeist leicht in schönen charakteristischen Nadelgarben erhalten werden. Es gibt ferner die MILLONsche Reaktion, mit der die von HOFFMANN und L. MEYER angegebene Probe wesentlich zusammenfällt.

4. Valin wurde durch SCHULZE (10) in Lupinus luteus aufgefunden später von MENOZZI (11) in Phaseolus, durch SCHULZE (12) in Vicia, Lupinus albus und angustifolius. In Cucurbita konnte der letztgenannte Forscher kein Valin nachweisen (13). Die Valinkupferverbindung scheidet sich nicht wie die analoge Leucinverbindung beim Erhitzen mit Kupferacetat aus,

---

1) GORUP BESANEZ, Ber. chem. Ges., *10*, 781 (1877). — 2) SCHULZE u. BARBIERI, Ebenda, *11*, 710, 1233 (1878); Landw. Jahrb., 7, 431. — 3) E. SCHULZE, Ber. chem. Ges., *12*, 1924 (1879). Journ. prakt. Chem., *27*, 337 (1883). Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). F. MEUNIER, Ann. agron., *6*, 275 (1880). — 4) WASSILIEFF, Landw. Vers.stat., *55*, 45 (1901). E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *30*, 277; Ber. bot. Ges., *21*, 65 (1903). SCHULZE u. CASTORO, l. c. BERTEL, l. c. — 5) J. BORODIN, Botan. Ztg. (1882), p. 590. — 6) TOLLENS, Verh. Naturf. Vers. Hamburg (1901), II, *1*, 165; SACK u. TOLLENS, Ber. chem. Ges., *37*, 4115 (1904). — 7) ORLOFF, Chem. Zentr. (1897), I, 1234. — 8) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 306 (1894). SCHULZE u. CASTORO, Ebenda, *18*, 387, 396 (1906); E. BELZUNG, Ann. Sci. Nat. (7), *15*, 203 (1892). R. BERTEL, l. c. Umsetzung von Tyrosin im Tierkörper: H. D. DAKIN, Journ. biol. Chem., *8*, 11 u. 25 (1910). — 9) F. HOFMEISTER, Lieb. Ann., *189*, 16; Eigenschaften des Tyrosins aus Keimlingen auch SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *35*, 308 (1902); Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 510 (1910). Colorimetrische Bestimmung: M. WEISS, Biochem. Ztsch., *97*, 170 (1919). — 10) E. SCHULZE, Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). SCHULZE u. BARBIERI, Journ. prakt. Chem., *27*, 337 (1883). SCHULZE u. WINTERSTEIN, l. c., p. 300 u. 312. — 11) A. MENOZZI, Ber. chem. Ges., *21*, 619 (1888). — 12) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *17*, 193, 208; ebenda, *20*, 306 (1894); *22*, 423 (1896); *45*, 38 (1905); SCHULZE u. CASTORO, l. c. WASSILIEFF, l. c. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 411 (1896). — 13) SCHULZE, Ebenda, *12*, 406 (1888).

sondern nur aus konzentrierten Lösungen der Aminosäure beim Sättigen mit $Cu(OH)_2$. Ihr Cu-Gehalt ist 21,41 %. Die Aminovaleriansäure aus Keimlingen ist identisch mit Isovaleriansäure. Es handelt sich immer nur um sehr geringe Mengen; etiolierte Lupinen enthalten nach SCHULZE und CASTORO mehr davon als grüne Keimpflänzchen.

5. Isoleucin wurde durch SCHULZE aus Keimlingen von Vicia sativa dargestellt (**1**).

6. Leucin wurde in nicht unerheblicher Menge zuerst von GORUP BESANEZ (**2**) in Wickenkeimlingen gefunden, während es dem ruhenden Viciasamen fehlt. Dieser Forscher zeigte auch die Identität von Leucin mit dem „Chenopodin" von REINSCH (**3**). In Vicia wurde das Leucin in der Folge von zahlreichen Forschern gefunden (**4**), sowohl in grünen, wie in etiolierten Keimpflanzen. In den letzteren sammelt es sich so stark an, daß SCHULZE (**5**) aus 6 Wochen alten Pflänzchen nur Leucin isolieren konnte. Auch Lupinus luteus kann sehr leucinreich werden (**6**). Ebenso liefert Lupinus albus Leucin, wie Cucurbita, Phaseolus, Ranunculus aquatilis (**7**). Nach MERCADANTE (**8**) ist bei keimenden Gramineen Leucin nicht nachzuweisen. In erwachsenen Paspalumblättern fand hingegen BORODIN (**9**) Leucin. Über Erkennung von Leucin vgl. p. 38 (**10**) und weiter unten sub „Methodisches".

7. Tryptophan finde ich bisher von Keimlingen nur durch SCHULZE und WINTERSTEIN (**11**) aus Lupinus albus angegeben. Jedoch ist hier auch auf den interessanten Befund von VAN ROMBURGH (**12**) hinzuweisen, daß die in den Samen von Erythrina hypaphorus Boerl. nachgewiesene Base Hypaphorin identisch ist mit einem betainartigen Derivate von Tryptophan. Dem Hypaphorin $C_{14}H_{18}O_2N_2$ ist somit folgende Strukturformel zuzuteilen:

C · CH · CH · CO
CH · (CH)N · O
NH

8. Prolin. Hier ist nur die Angabe von SCHULZE und WINTERSTEIN vorhanden, daß diese Aminosäure sehr wahrscheinlich in Keimlingen von Lupinus albus vorkommt.

9. Asparaginsäure wurde durch MERCADANTE (**13**) aus Phaseolus, aus Cucurbita durch SCHULZE und BARBIERI (**14**) angegeben; es liegt nahe

1) E. SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 38 (1905). — **2**) E. v. GORUP BESANEZ, Ber. chem. Ges., *7*, 146 u. 569 (1874). — **3**) REINSCH, Neu. Jahrb. Pharm., *20*, 268; *21*, 123; *23*, 73; *27*, 193. — **4**) C. COSSA, Ber. chem. Ges., *8*, 1357 (1875). SCHULZE, Chem. Zentr. (1896), I, 113; SCHULZE u. BARBIERI, Journ. prakt. Chem., *20*, 385; Landw. Vers.stat., *24*, 167. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *16*, 193 (1892). SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ebenda, *45*, 38 (1905). — **5**) E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *46*, 383. PRIANISCHNIKOW, Ebenda, *45*, 247. — **6**) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *12*, 1924 (1879); Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). Journ. prakt. Chem., *27*, 337 (1883). Ztsch. physiol. Chem., *22*, 411 (1896). — **7**) SCHULZE, Ebenda, *20*, 306 (1894). BELZUNG, l. c. SCHULZE u. CASTORO, l. c. WASSILIEFF, l. c.; über Lup. angustifolius Ztsch. physiol. Chem., *22*, 411 (1896). Cucurbita: SCHULZE u. BARBIERI, Ber. chem. Ges., *11*, 710 u. 1233 (1878). Phaseolus: A. MENOZZI, l. c. Ranunc. aquatilis: J. B. SCHNETZLER, Justs Jahresber. (1888), I, 13. — **8**) A. MERCADANTE, Ber. chem. Ges., *9*, 581 (1876). — **9**) BORODIN, Justs Jahresber. (1885), I, 121. — **10**) Mikrochemisches: H. MOLISCH, Mikrochemie d. Pfl., Jena 1913, p. 103. — **11**) E. SCHULZE u. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *45*, 38 (1905). — **12**) P. VAN ROMBURGH, Kgl. Ak. Amsterdam, *19*, 1250 (1911). ROMBURGH u. GEO. BARGER, Journ. Chem. Soc., *99*, 2068 (1911). — **13**) A. MERCADANTE, Ber. chem. Ges., *8*, 823 (1875). — **14**) SCHULZE u. BARBIERI, Ebenda, *11*, 710 (1878).

daß sie hier aus dem so verbreiteten und massenhaft vorkommenden Asparagin entstanden ist, aus dem sie ja schon beim Kochen mit Wasser hervorgeht.

Das Asparagin, welches wohl auch im Eiweißmolekül die der Asparaginsäure des Hydrolysengemisches zugrundeliegende Substanz ist, ist das Amid der Aminobernsteinsäure $H_2N \cdot CO \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$. Die ersten Angaben von DELAVILLE und ROBIQUET (1) beziehen sich auf sein Vorkommen in Asparagus-Schößlingen, das ihm den Namen verliehen hat. In Keimlingen fand es zuerst DESSAIGNES und CHAUTARD (2) bei Papilionaceen, LERMER bei Hordeum. PASTEUR (3), ferner BOUSSINGAULT (4) und COSSA (5) konstatierten seine massenhafte Ansammlung in verdunkelten Keimlingen, eine Erscheinung, welche PFEFFER (6) in ihren wesentlichen Zügen aufgeklärt hat. PIRIA (7) gewann aus Vicia 1,5 %, aus Faba 1,4 % Asparagin, DESSAIGNES aus 1 l Wickensaft bis 40 g, aus 1 l Bohnensaft 14 g; PASTEUR aus 1 l Wickensaft 5—6 g Asparagin. BEYER (8) fand in der Trockensubstanz des Hypocotyls von Vicia 10,5 %, der Wurzel 10,6 %, bei weiter entwickelten Pflanzen etwa 3,4 % Asparagin; BOUSSINGAULT in 20tägigen etiolierten Phaseoluskeimlingen 2,4 % Asparagin. SCHULZE und UMLAUFT (9), wie viele andere neuere Untersucher geben oft viel höhere Werte an. Für Lupinus luteus konstatierten diese Autoren in 10—12 cm langen etiolierten Keimlingen 20 % der Trockensubstanz an Asparagin. Überhaupt ist bei den Leguminosen, selbst in grünen Pflanzen, die Asparaginanhäufung am größten, so daß man nach PRIANISCHNIKOW noch aus blühender Vicia Asparagin darstellen kann. Auch aus Lupinus albus gewinnt man nach SCHULZE (10) sehr viel Asparagin. Offenbar hängt dies mit dem relativ bedeutenden Eiweißgehalte der Leguminosensamen zusammen. Wenig Asparagin liefern Cerealien, Papaver, Tropaeolum, Coniferenkeimlinge, Cucurbita oder Helianthus (11). Im Embryo des ruhenden Weizenkorns fand FRANKFURT (12) eine geringe Menge Asparagin. Süße Mandeln enthalten nach PORTES (13) 0,4 % Asparagin. Von Malzkeimen gab MEISSL (14) 2,66 % Asparagin an. Manche Pflanzen scheinen übrigens nicht immer die gleiche Menge Asparagin zu speichern; FRANKFURT beobachtete, daß Helianthuskeimlinge manchmal nur Asparagin, manchmal nur Glutamin enthalten (15).

Zur Illustration des Fortganges der Asparaginbildung während der Keimung folgende Daten. SACHSSE (16) fand bei Pisum in Prozenten der ursprünglich angewendeten trockenen Samenmenge:

nach	6	10	15	24	Tagen
Verdunkelte Pflanzen . . .	0,46	0,92	2,68	7,04	(Cotyledonen gefault)
Belichtete Pflanzen	0,69	1,32	2,50	6,94	

1) DELAVILLE, Ann. de Chim., *41*, 298 (1802). ROBIQUET jun., Ebenda, *55*, 152 (1805). VAUQUELIN u. ROBIQUET, Ebenda, *57*, 88 (1805). — 2) DESSAIGNES u. CHAUTARD, Journ. Pharm. (3), *13*, 245. — 3) PASTEUR, Ann. Chim et Phys. (3), *31*, 70 (1851); *34*, 30; *38*, 457. — 4) BOUSSINGAULT, Compt. rend., *58*, 881 u. 917. — 5) COSSA, Landw. Vers.stat., *15*, 182 (1872). — 6) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Bot., *8*, 530 (1872). Mon. Ber. Ak. (1873), 780. — 7) R. PIRIA, Ann. Chim. et Phys. (3), *22*, 160 (1848). — 8) A. BEYER, Landw. Vers.stat., *9*, 168. — 9) E. SCHULZE u. W. UMLAUFT, Ebenda, *18*, 1 (1875). — 10) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 411 (1896). WASSILIEFF, l. c. SCHULZE u. CASTORO, l. c. — 11) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 18 (1897). DETMER, Physiol. d. Keimung, p. 164. Verbreitung: A. STIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 245 (1913); Darstellung: SCHULZE u. WINTERSTEIN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., II, 510 (1910). — 12) S. FRANKFURT, Landw. Vers.stat., *47*, 446. — 13) L. PORTES, Ann. Chim. et Phys. (5), *10*, 430; Compt. rend. (1877), p. 389. Justs Jahresber. (1876), II, 869; (1877), 610 u. 1713. — 14) MEISSL, Biederm. Zentr. (1877), II, 69. — 15) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 306 (1894). — 16) R. SACHSSE u. W. KORMANN, Landw. Vers.stat., *17*, 88 (1874).

In den Versuchen SCHULZES (1) an Lupinus luteus stieg die Asparaginmenge nach 8tägiger Keimung auf 9,78 % der Trockensubstanz der reifen Samen, nach 13 Tagen auf 18,22 %. PRIANISCHNIKOW fand bei Vicia sativa nach 20 Tagen 7,86 %, nach 40 Tagen 9 92 % Asparagin. In Glycine hispida erreichte die Asparaginmenge nach 2—3wöchentlicher Vegetation im Dunklen 7—8 % der Trockensubstanz (2). SCHULZE, UMLAUFT und URICH (3) fanden bei Lupinen, deren reife Samen 45 % Eiweiß enthielten, nach 8tägiger Keimung im Dunklen nur mehr 8 %. Mehr als 60 % des Gesamt-N war als Asparagin zugegen, dessen Menge bis zu 25 % der Trockensubstanz anstieg. In späteren Versuchen gab SCHULZE (4) folgende Zahlen für den Gang der Asparaginspeicherung mit zunehmendem Alter der Keimpflanzen:

Asparagingehalt	4	7	10	12	15	16 tägige Keimlinge
in Proz. der Trockensubstanz der Keimlinge	3,3	11,2	17,3	22,3	25,0	25,7
in Proz. der Trockensubstanz des Samens	3,12	9,78	15,24	18,22	19,43	

Erst nach mehreren Wochen sank der Asparagingehalt. MERCADANTE (5) erhielt aus 2 kg Samen von Phaseolus während der Keimung im Dunklen, als die Schaftlänge 8, 10 und 25 cm betrug, folgende Ausbeuten:

	Asparagin	Asparaginsäure	Bernsteinsäure in g
Schaftlänge 8 cm	3,57	Spur	—
„ 10 „	2,46	0,53	Spur
„ 25 „	2,15	0,75	0,62

Bemerkt sei, daß COSSA (6) in etiolierter Vicia sativa (50 cm lang) schließlich kein Asparagin mehr fand, sondern nur Bernsteinsäure und Äpfelsäure. Über den Zerfall des Asparagins bei der Autolyse von Keimlingen vgl. die Angaben von KIESEL (7). Es würde sich um eine reduktive Desamidierung durch Enzyme handeln. SCHULZE (8) fand Lupinenkeimlinge am asparaginreichsten (28,7 %), wenn dieselben erst 10 Tage im Dunklen, dann einige Wochen bei beschränktem Lichtzutritt vegetiert hatten. Für verschiedene Objekte fand endlich MEUNIER (9) folgende Werte:

Asparagin nach	9	12	13	17	18	20	34	38	42 Tagen
In Pisum: Dunkel . . .	0,48	0,59	—	—	—	2,69	—	—	1,22
Licht . . .	0,35	0,56	—	—	—	2,58	—	—	Spur
Phaseol. multiflor.: Dunkel	—	—	1,13	—	2,28	—	—	5,18	—
Licht .	—	—	1,18	—	2,25	—	—	1,41	—
Lupin. luteus: Dunkel .	—	4,53	—	—	9,69	—	17,5	—	—
Licht . .	—	4,38	—	—	9,51	—	17,1	—	—
Vicia faba: Dunkel . .	—	1,53	—	3,25	—	—	—	—	—
Licht . . .	—	1,49	—	2,91	—	—	—	—	—

Es ist anzunehmen, daß die Ansammlung von Asparagin von bestimmten Entwicklungsstadien der Keimung an hauptsächlich in den Achsenteilen Platz greift. So fand SCHULZE (10) bei 11tägigen Lupinen in den Achsen-

---

1) SCHULZE, Landw. Jahrb., *5*, 848 (1876). — 2) SCHULZE, Ebenda, *9*, 689; Ztsch. physiol. Chem., *12*, 405 (1888). — 3) E. SCHULZE, UMLAUFT u. URICH, Ber. chem. Ges., *9*, 1314 (1876). — 4) SCHULZE, Ebenda, *11*, 520 (1878); Landw. Jahrb. (1878), 411. — 5) MERCADANTE, Ber. chem. Ges., *8*, 823 (1875). — 6) C. COSSA, Ebenda, *8*, 1357 (1875). — 7) A. KIESEL, Ztsch. physiol. Chem., *60*, 460 (1909). — 8) E. SCHULZE u. BARBIERI, Journ. prakt. Chem., *27*, 337 (1883). — 9) F. MEUNIER, Justs Jahresber. (1880), I, 381. — 10) E. SCHULZE, Landw. Jahrb. (1878), l. c. BEYER, l. c.

organen 31,81 %, in den Cotyledonen nur 7,62% der Trockensubstanz an Asparagin. Auch PRIANISCHNIKOW (**1**) fand bei Faba und Vicia sativa in den Cotyledonen bedeutend weniger Asparagin als in den Achsenteilen. Ferner bildet bei den Achsenteilen der im Asparagin enthaltene N einen weitaus größeren Anteil vom Gesamt-N als bei den Cotyledonen.

Das Asparagin, über dessen chemische Eigenschaften wir bereits aus älterer Zeit eine Monographie von PLISSON und HENRY (**2**) besitzen, ist ein viel studierter und chemisch sehr interessanter Stoff, der schon aus eingeengtem Wasserextrakt von Keimlingen mühelos in großen Krystallen leicht zugänglich ist und daraus rein erhalten werden kann. Von SCHULZE (**3**) wurde neben der Krystallisiermethode noch die Fällbarkeit mit Mercurinitrat als Mittel zur Isolierung des Asparagins angegeben und verwendet. Ein viel benutztes Hilfsmittel, um das Asparagin besonders in Geweben und Schnitten nachzuweisen, ist das Einlegen der letzteren in starken Alkohol, wodurch es in den Zellen reichlich auskrystallisiert (**4**).

Nach MOULIN (**5**) gibt Asparaginlösung, mit Resorcin und H_2SO_4 erwärmt, eine gelbgrüne Färbung; das Reaktionsgemisch zeigt nach Verdünnen mit Wasser und Zufügen von Soda Fluoreszenz. Zur Asparaginbestimmung hat man sich der von SACHSSE und KORMANN angegebenen Methode der Zersetzung mit HNO_2 bedient, sowie der Ammoniakentwicklung beim Erwärmen mit starker Alkalilauge (MEUNIER). Asparagin ist im Gegensatze zur Bernsteinsäure als Substanz mit einem assymetrischen Kohlenstoffatom:

$$\begin{matrix} NH_2\diagdown_{*}\diagup CH\cdot CONH_2 \\ C \\ H\diagup\ \diagdown COOH \end{matrix}$$

ein racemischer Stoff Die beiden optisch aktiven Modifikationen sind nach PIUTTI (**6**) in Viciakeimlingen gleichzeitig vorhanden, doch besteht die Hauptmenge aus der linksdrehenden Komponente. Es bedarf allerdings noch der Untersuchung, ob nicht, wie es wahrscheinlich ist, d-Asparagin bei der Präparation durch Racemisierung entsteht (**7**). Der Theorie gemäß ist die eine Form, wie bei der Traubensäure, linksbemiedrisch, die andere rechtshemiedrisch und man kann beide durch Auslesen der Krystalle trennen. d-Asparagin ist in kaltem Wasser etwas besser löslich als l-Asparagin und schmeckt im Gegensatze zu dem fadeschmeckenden l-Asparagin süß. PASTEUR hat hieran die Bemerkung geknüpft, daß sich die Geschmacksnervensubstanz wie ein optischaktiver Stoff zu den beiden Asparaginen verhält, und deswegen mit ihnen verschieden reagiert. PIUTTI wandelte die beiden Asparagine über den Weg der Bildung von inaktiver Asparaginsäure ineinander gegenseitig um, und WALDEN (**8**) erreichte dies durch Vermittlung der Halogenbernsteinsäure.

Durch die verschiedensten hydrolytisch wirkenden Einflüsse, schon durch Kochen mit Wasser, sehr leicht bei höherem Druck, wird das Asparagin unter Ammoniakabspaltung verseift (**9**). JOLLES (**10**) hat angegeben,

1) D. PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *45*, 52; Ber. bot. Ges., *22*, 35 (1904). — **2**) PLISSON u. HENRY f., Ann. Chim. et Phys. (2), *45*, 304 (1830). PIRIA, l. c. DESSAIGNES, Journ. prakt. Chem., *50*, 289 (1850). — **3**) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *15*, 2855 (1882). — **4**) PFEFFER, l. c. BORODIN, Botan. Ztg. (1882), p. 589; (1878), p. 805. ZIMMERMANN, Botan. Mikrotechn., p. 80. H. MOLISCH, Mikrochem. d. Pfl., Jena 1913, p. 103. — **5**) L. MOULIN, Journ. Pharm. et Chim. (6), *3*, 543 (1896). Saccharin gibt diese Reaktion ebenfalls. — **6**) A. PIUTTI, Gazz. chim. ital., *17*, 126 (1887); Ber. chem. Ges., *19*, 1691 (1886); *20*, Ref. 510 (1887). Compt. rend., *103*, 134 (1886). Chem. Zentr. (1887), p. 510; (1888), II, 1529. — **7**) Hierzu: H. PRINGSHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 89 (1910). F. EHRLICH u. F. LANGE, Biochem. Ztsch., *54*, 256 (1913). — **8**) P. WALDEN, Ber. chem. Ges., *28*, 2766 (1895). — **9**) Vgl. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *29*, 233; Ber. chem. Ges., *16*, 1872 (1883). — **10**) A. JOLLES, Ebenda, *34*, 386 (1901); Pflüg. Arch., *84*, 446 (1901).

daß bei der Oxydation mit $KMnO_4$ in saurer Lösung eine Hälfte des N als NH_3, die andere Hälfte als Harnstoff abgespalten wird, ein jedenfalls nicht leicht verständliches Verhalten.

10. Glutaminsäure, das nächst höhere Homologon der Asparaginsäure, wurde von GORUP BESANEZ (1) zuerst im Safte von Wickenkeimlingen aufgefunden. Sie ist hier offenbar entstanden aus ihrem Amid, dem Glutamin, $H_2NCO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$. Das Glutamin wurde durch SCHULZE und BARBIERI (2) in Cucurbitakeimlingen entdeckt. SABANIN und LASKOWSKY (3) hatten bei ihrer chemischen Untersuchung der Keimungsgeschichte von Cucurbita die Natur dieses Amides noch nicht erkannt. In ruhenden Kürbissamen fehlt Glutamin. SCHULZE (4) fand dann Glutamin in Lupinus luteus, später in Keimlingen von Helianthus, Ricinus, Picea excelsa und einer Reihe von Cruciferen. Bei den letzteren, wie bei den Caryophyllaceen, tritt es vicariierend für Asparagin auf, und in ähnlicher Menge wie dieses. Auch bei Farnen wurde Glutamin nachgewiesen, endlich in Beta und Spinacia (5). In der Regel geht die Neigung zur Anhäufung von Glutamin in Keimlingen der Samen und beim Austreiben der unterirdischen Speicherorgane derselben Pflanze parallel. 16tägige Cucurbitapflanzen lieferten SCHULZE und BARBIERI 1,74% der Trockensubstanz an Glutamin. Besonders die Achsenorgane waren reich daran; Picea ergab bis 2,5% an Glutamin (6).

Nach FRANKFURT (7) liefern etiolierte Helianthuskeimpflanzen bald mehr Glutamin, bald mehr Asparagin. Auch sah SCHULZE (8) in manchen Cucurbitakulturen statt Glutamin mitunter mehr Asparagin als gewöhnlich auftreten. Fichtenkeimlinge sollen nach SCHULZE (9) im Zimmer wenig Glutamin und mehr Asparagin formieren, während in Freilandkulturen nur Glutamin gefunden wurde.

Zur Isolierung von Glutamin extrahierte SCHULZE die Keimlinge mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Alkohol und Wasser, und das Extrakt wurde nach Abdunsten des Alkohols mit Bleiessig gefällt. Das Filtrat von dieser Fällung wurde mehrere Stunden mit HCl gekocht, um die Glutaminsäure durch Verseifung zu isolieren, oder mit einer nicht zu sauren Mercurinitratlösung gefällt, und das Glutamin aus diesem Niederschlage gewonnen (10). In seinen Eigenschaften ist Glutamin dem Asparagin sehr ähnlich. Die Cu-Verbindung enthält nach SCHULZE (11) 17,9% Cu und 15,9% N. Glutamin bildet eine Verbindung mit Weinsäure (12). Zur quantitativen Glutaminbestimmung bedient man sich wie beim Asparagin der von SACHSSE (13)

---

1) v. GORUP BESANEZ, Sitz.ber. phys.med. Soc. Erlangen, 3. Heft, p. 125 (1877). Ber. chem. Ges., *10*, 780 (1877). K. ANDRLIK, Ztsch. Zuck.ind. Böhm., *28*, 327 (1904). — 2) SCHULZE u. BARBIERI, Ber. chem. Ges., *10*, 199 (1877); *11*, 712 (1878). Journ. prakt. Chem., *20*, 385 (1879); *32*, 433 (1885). Landw. Jahrb., *6*, 681 (1877); *12*, 909 (1884). — 3) A. SABANIN u. N. LASKOVSKY, Landw. Vers.stat., *8*, 405 (1875). — 4) SCHULZE, Landw. Jahrb., *7*, 431 (1878). — 5) SCHULZE, Landw. Vers.stat., *47*, 33 (1896); *49*, 442 (1898). Ztsch. physiol. Chem., *20*, 327 (1894). Verbreitung: A. STIEGER, Ebenda, *86*, 245 (1913). Sekundäre Natur der Entstehung: E. SCHULZE, Ber. bot. Ges., *25*, 213 (1907). — 6) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 18 (1897). — 7) S. FRANKFURT, Landw. Vers.stat., *43*, 145. — 8) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 306 (1894). — 9) SCHULZE, Ebenda, *22*, 411, 414 (1896). — 10) Vgl. SCHULZE, Ztsch. analyt. Chem., *22*, 325 (1883). SCHULZE u. BARBIERI, l. c. (1877). SCHULZE u. WINTERSTEIN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 510 (1910). — 11) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *29*, 1882 (1896). Über die Eigenschaften des Glutamins ferner BOSSHARD, Diss. Zürich (1883); SCHULZE u. BOSSHARD, Ber. chem. Ges., *16*, 312 (1883). Optische Drehung: E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *65*, 237 (1906); *77*, 1 (1912). — 12) E. SCHULZE u. CH. GODET, Ebenda (1907), p. 313. — 13) R. SACHSSE, Ebenda, *16*, 61 (1873); SACHSSE u. KORMANN, Ebenda, *17*, 88

eingeführten azotometrischen Methode oder der Bestimmung des Amid-N. Nach SCHULZE (1) zerlegt man das Amid durch zweistündiges Kochen mit 7½—10 volumprozentiger HCl oder 2—2,5% H_2SO_4 und bestimmt das NH_3 nach der Methode von SCHLOESING oder mittels Destillation mit Magnesia.

Die bei der Eiweißhydrolyse erhältlichen Diaminosäuren sind als Stoffwechselprodukte bei der Keimung sämtlich nachgewiesen.

Arginin wurde 1886 durch SCHULZE und STEIGER (2) als eine für die Chemie überhaupt neue Substanz in Lupinenkeimlingen entdeckt. Diese Forscher versetzten das Wasserextrakt aus den Keimlingen mit Bleiessig, fällten das Filtrat von diesem Niederschlage mit Mercurinitrat und gewannen durch Zerlegen des Hg-Niederschlages eine Fraktion, in der zuerst Asparagin und dessen Mutterlauge Argininnitrat durch Krystallisation ausgeschieden wurde. Durch seine Löslichkeit in heißem verdünnten Alkohol ist Arginin von Asparagin leicht zu trennen. Später wendete SCHULZE die Phosphorwolframsäurefällung zur Isolierung des Arginins an (3). Lupinen lieferten 3—4 % Arginin, Cucurbita etwas weniger (4). In der Folge gewann SCHULZE (5) aus der Trockensubstanz der Cotyledonen 14tägiger Lupinenkeimpflanzen mehr als 4,22 % Arginin. Auch aus Glycine hispida wurde Arginin erhalten (6). Sehr viel Arginin entdeckte SCHULZE (7) sodann in Coniferenkeimlingen, wo es unter den Aminosäuren dominiert. Es enthielten zweiwöchentliche etiolierte Keimlinge:

von Abies pectinata	4,04 %	Gesamt-N	2,98 %	Eiweiß-N	0,87 %	Diamino-N
Picea excelsa	5,73 %	„	3,13 %	„	1,68 %	„

Vom Gesamtstickstoff enthielten:

Grüne Tannenkeimlinge .	73,8 %	Eiweiß-N	21,5 %	Diamino-N	4,7 %	anderer N
Etiolierte Fichtenkeimlinge	54,6 %	„	29,3 %	„	16,1 %	„
Fichten im Freiland . .	64,4 %	„	14,9 %	„	20,7 %	„

Dies entspricht dem hohen Gehalte des Fichtensamenproteins an Diamino-N (40%), sowie der Tatsache, daß das Reserveproteid der Fichte nach RONGGER (8) 10,3% Arginin bei der Hydrolyse liefert. SUZUKI (9) fand viel Arginin in etiolierten Keimlingen von Cryptomeria und Pinus, während Gingko-Keimlinge nur wenig Arginin enthielten. Übrigens spielt das Arginin eine ähnliche Rolle im Eiweißumsatze in den Coniferen-Laubtrieben. In kleineren Mengen ist Arginin in allen Keimpflanzen gefunden worden, wo immer man danach suchte: Lupinus albus (10), Vicia sativa (11) u. a. Bei Lupinus luteus hat SCHULZE (12) den Argininгehalt der Keimlinge in ver-

---

(1874). SACHSSE u. BRUMME, Journ. prakt. Chem., *6*, 118; SACHSSE, Chemie u. Physiol. d. Farbstoffe, Kohlenhydrate usw. (1876).

1) E. SCHULZE, Journ. prakt. Chem., *31*, 233 (1885). SCHULZE u. BOSSHARD, Landw Vers.stat., *29*, 399. Ber. chem. Ges., *17*, 56 (1884). — 2) E. SCHULZE u. E. STEIGER, Ebenda, *19*, 1177 (1886). — 3) Methodisches: E. SCHULZE u. WINTERSTEIN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 510 (1910). — 4) SCHULZE u. STEIGER, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 43 (1887). — 5) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *24*, 1098 (1891); Landw. Jahrb., *21*, 105 (1892). — 6) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *12*, 405 (1888). — 7) SCHULZE, Ebenda, *22*, 435 (1896). — 8) RONGGER, Landw. Vers.stat., *51*, 107 (1899). — 9) SUZUKI, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *4*, 1 u. 25 (1900). — 10) WASSILIEFF, l. c.; SCHULZE u. CASTORO, l. c.; SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 507 (1906). — 11) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *25*, 658 (1892). Ztsch. physiol. Chem., *17*, 193 (1892). Landw. Vers.stat., *46*, 383 (1895); Ztsch. physiol. Chem., *30*, 241; Ber. bot. Ges., *21*, 66 (1903); Verbreitung: A. STIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 245 (1913); Trifolium: A. KIESEL, Ebenda, *49*, 72 (1906). — 12) E. SCHULZE, Ber. bot. Ges., *22*, 381 (1904).

schiedenen Entwicklungsstadien quantitativ bestimmt. Es betrug der Arginingehalt bei 2—3 tägigen Pflanzen 1,24% der Trockensubstanz, bei 3—4 tägigen 1,56—1,74%, bei 6 tägigen 2,35%, bei 11 tägigen 3,23%, bei 15—16 tägigen 3,78%, bei 19—20 tägigen 3,84% in Dunkelkultur SCHULZES weitere Zahlen zeigen, daß die Argininbildung und der Eiweißverlust etwa in gleichem Schritte gehen. Auf 100 Teile Eiweißverlust kamen etwa 6,44 Teile gebildetes Arginin. Nach den Autolysenversuchen von SCHULZE und CASTORO (1) dürfte das Keimlingsarginin wenigstens bei Lupinus ein primäres Eiweißspaltungsprodukt sein.

In Vicia sativa wurde durch SCHULZE (2) Guanidin nachgewiesen, von dem es naheliegt, daß seine Entstehung mit dem Arginin zusammenhängt. Der Befund von KUTSCHER und OTORI (3), daß Guanidin unter den Produkten der tierischen Pankreasautolyse auftritt, ließ an einen fermentativen Abspaltungsprozeß bei der Guanidinbildung denken. Doch führt, wie die Untersuchungen von KIESEL (4) über den fermentativen Argininabbau in der Pflanze gezeigt haben, der Weg gewöhnlich nicht über die Abspaltung von Guanidin, sondern über die Spaltung des Arginins in Harnstoff und Ornithin. Auch Agmatin wird nicht formiert. Hingegen ist es FOSSE (5) gelungen, in weiter Verbreitung die Gegenwart von Harnstoff in Keimlingen zu zeigen. Bei Pisum betrug die Ausbeute 0,64 % der Trockensubstanz. Der Embryo enthielt am meisten Harnstoff im ruhenden Samen oder in den ersten Keimungsstadien, die Cotyledonen nur wenig oder gar keinen Harnstoff. Ruhende Samen von Lupinus albus und von Phaseolus waren nicht harnstoffhaltig, während Harnstoff bei Pisum, Zea und Triticum auch im ruhenden Samen gefunden wurde. Über die Keimlings-Arginase wären noch Untersuchungen anzustellen. Die Bernsteinsäure, welche SCHULZE und CASTORO aus manchen Keimlingen gewannen, kann ebensowohl aus Asparagin durch Reduktion, wie aus Arginin durch Oxydation gebildet sein.

Lysin und Histidin gewann SCHULZE (6) aus den Cotyledonen 2—3 wöchentlicher etiolierter Lupinenkeimlinge, und isolierte diese Stoffe nach den Methoden von KOSSEL (vgl. p. 46). 560 g lufttrockene Cotyledonen lieferten etwa 45 g Argininnitrat, 2,5 g Histidinchlorid und 1 g Lysinpikrat. Auch Lupinus albus (7) sowie die Coniferenkeimlinge ergaben beide Basen.

Wir haben sodann jener Stoffe zu gedenken, welche, aus dem Nucleinstoffwechsel stammend, sich in der Keimung bilden. SALOMON (8) konstatierte zuerst Xanthin und Hypoxanthin im Safte von Keimlingen der gelben Lupine zu 0,2 %; beide Purinbasen lassen sich auch aus Malzkeimen leicht darstellen. SCHULZE (9) fand sie in Lupinenkeimlingen, ebenso in Vicia sativa, Cucurbita (10), MENOZZI (11) ferner in Phaseolus. Zweifellos hängen beide Purinbasen genetisch auch hier mit den Guanin- und Adenin-

---

1) E. SCHULZE u. N. CASTORO, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 170 (1904). — 2) SCHULZE, Ber. chem. Ges., *25*, 658 (1892). Ztsch. physiol. Chem., *17*, 193 (1892). Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., II, 526 (1910); P. RONA, Abderhaldens biochem. Handlex., *4*, 783 (1911). — 3) FR. KUTSCHER u. OTORI, Zentr. Physiol. (1904), p. 248. — 4) A. KIESEL, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 169 (1911); *60*, 460 (1909). WL. BUTKEWITSCH, Ebenda, *63*, 103 (1909). — 5) R. FOSSE, Compt. rend., *156*, 567 u. 1938 (1913). — 6) SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *28*, 465 (1899). — 7) SCHULZE, Ebenda, *47*, 507 (1906). — 8) G. SALOMON, Arch. f. Physiol. (1881), p. 166 u. 361; Justs Jahresber. (1880), 1, 290. — 9) SCHULZE, Landw. Jahrb. (1883), p. 909; Journ. prakt. Chem. (1883), 337; Vicia: Landw. Vers.stat., *46*, 383 (1895). Trifolium: A. KIESEL, Ztsch. physiol. Chem., *67*, 241 (1910); Isolierung: E. WINTERSTEIN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 610 (1910). — 10) SCHULZE u. STEIGER, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 43 (1887). — 11) MENOZZI, Ber. chem. Ges., *21*, 619 (1888).

gruppen der Nucleinsäuren zusammen. SCHITTENHELM (1) hat gezeigt, daß Lupinenkeimlinge eine Desamidase enthalten, welche Guanin in Xanthin überführt. Guanin selbst ist, wie schon SCHULZE und BOSSHARD (2) berichten konnten, in Keimlingen verbreitet und ließ sich in Gräsern, Leguminosen und Cucurbitakeimlingen nachweisen. Zum mikrochemischen Guanin-nachweise wird man vielleicht die von GIACOMO (3) angegebene Reaktion in Pflanzen gebrauchen können: Gelbrote Färbung mit Sulfanilsäure, Nitrit und Schwefelsäure unter Bildung von Diazobenzolsulfosäure. Daß bei Trifolium repens das Hypoxanthin aus Adenin hervorgeht, hat KIESEL (4) wahrscheinlich zu machen gesucht; nach YOSHIMURA (5) ist Adenin in der Tat in allen nucleinhaltigen Geweben, u. a. in Reiskleie, zugegen.

Es wäre nach der chemischen Sachlage des Nucleinabbaues in Pflanzen die Auffindung von Harnsäure möglich. Doch war alles Suchen nach derselben vergeblich (4). Der Grund dürfte darin gelegen sein, daß die Oxydation rasch bis zum Allantoin fortschreitet, welches einigemal in Keimlingen nachgewiesen werden konnte. Im Keime des ruhenden Weizenkorns wurde Allantoin zuerst durch RICHARDSON und CRAMPTON (6) gefunden, was später mehrfach bestätigt worden ist (7). Der Weizenembryo enthält davon 0,5%. Sodann fanden SCHULZE und PFENNIGER Allantoin in den unreifen Fruchtschalen von Phaseolus auf; aus den Samen von Datura Metel isolierte es PLATO (8), aus Nicotianasamen SCURTI und PERCIABOSCO (9). Bekanntlich entsteht Allantoin bei der Oxydation der Harnsäure mit alkalischer Permanganatlösung; es ist das Endprodukt des tierischen Nucleinstoffwechsels, nach der oxydativen Zerstörung der Harnsäure, die auch im Tier nur ein intermediäres Stoffwechselprodukt darstellt (10).

Das Vernin, welches SCHULZE und BOSSHARD verbreitet in Keimpflanzen nachwiesen (11), ist ein der Guanylsäure im tierischen Organismus vergleichbares Produkt des Nucleinstoffwechsels. Es liefert bei der Spaltung mit Salzsäure Guanin, und ist nach den Untersuchungen von SCHULZE (12) sicher identisch mit dem d-Ribose-Ester des Guanins, identisch mit dem Guanosin aus dem Tierreiche. Vernin entspricht der Formel $C_{16}H_{20}N_8O_8 + 3H_2O$; es ist in kaltem Wasser wenig, in heißem leicht löslich, löslich in Säuren, unlöslich in Alkohol und fällbar durch Mercurinitrat oder Silbernitrat. Wie schon SCHULZE annahm, ist auch das durch RITTHAUSEN in Vicia sativa entdeckte Vicin als glucosidischer Stoff des Nucleinumsatzes, und zwar als Glucosid einer Pyrimidinbase aufzufassen. Die Hydrolyse ergibt nach RITTHAUSEN eine Base, das Divicin, und 2 Mol. d-Glucose. Die Identität des Zuckers mit Traubenzucker wurde durch E. FISCHER

---

1) A. SCHITTENHELM, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 289 (1909). — 2) SCHULZE u. BOSSHARD, Ebenda, *9*, 420 (1885). Journ. prakt. Chem., *32*, 433 (1885). — 3) AMATORE DE GIACOMO, Ztsch. wiss. Mikrosk., *27*, 257 (1910). — 4) A. KIESEL, Ztsch. physiol. Chem., *67*, 241 (1910). — 5) K. YOSHIMURA, Ebenda, *88*, 334 (1913). — 6) CL. RICHARDSON u. CRAMPTON, Ber. chem. Ges., *19*, 1180 (1886); SCHULZE u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 420 (1885). — 7) FR. B. POWER u. A. H. SALWAY, Pharm. Journ. (4), *37*, 117 (1913). A. STIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 245 (1913). — 8) G. DE PLATO, Staz. Sper. agr. ital., *43*, 79 (1910). — 9) F. SCURTI u. F. PERCIABOSCO, Gazz. chim. ital., *36*, II, 626 (1906). — 10) Allantoin: C. BRAHM, Abderhaldens biochem. Handlex., *4*, 1151 (1911); A. W. TITHERLEY, Journ. Chem. Soc., *103*, 1336 (1913); L. B. MENDEL u. DAKIN, Journ. biol. Chem., *7*, 153 (1910); H. BILTZ, Ber. chem. Ges., *43*, 1999 (1910); *46*, 3410 (1913). HANDOVSKY, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 211 (1914); GIVENS, Journ. Biol. Chem., *18*, 417 (1914). — 11) SCHULZE u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *10*, 80 (1886). Journ. prakt. Chem., *32*, 432 (1885); Landw. Vers.stat., *46*, 383 (1895). WASSILIEFF, l. c. — 12) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *66*, 128 (1910); *70*, 143 (1910).

und durch WINTERSTEIN nachgewiesen (1). Die Konstitution des Divicins, das durch JOHNSON (2) als 4,5-Diaminouracil aufgefaßt worden war, ist nach LEVENE (3) eher 4,6-Dioxy-2,5-Diaminopyrimidin $C_4H_6O_2N_4$ oder

```
NH2 · CH—CO—NH
      |      |
      CO— N = C · NH2.
```

WINTERSTEINS Analyse des Vicins führte zur Formel $C_{10}H_{16}O_7N_4$.

Von SCHULZE und WINTERSTEIN (4) wurde vermutet, daß das von MAQUENNE und PHILIPPE (5) als Pyridinderivat angesprochene Ricinin aus Keimlingen von Ricinus communis zu den Umsatzprodukten des Eiweißstoffwechsels gehört. Etiolierte Keimlinge lieferten davon 2,43%, grüne Keimpflanzen nur 1,33% der Trockensubstanz. Mit dem Ricinin ist das früher von SCHULZE (6) angegebene Ricidin identisch. Ricinin krystallisiert leicht, schmilzt bei 201,5° (corr.) und gibt eine der Murexidprobe ähnliche Reaktion, sowie die Reaktion nach WEIDEL. Seine Zusammensetzung entspricht der Formel $C_8H_8N_2O_2$. Mit alkoholischer Lauge erhitzt liefert es Methylalkohol und Ricininsäure $C_7H_6N_2O_2$. Über seine Konstitution vgl. Kap. 53.

Cholin und Betain, welche in Keimlingen weit verbreitet vorkommen (SCHULZE) (7), aber bei Vicia schon im ungekeimten Samen nachgewiesen werden konnten, sind Derivate der Phosphatide und hängen mit dem Eiweißstoffwechsel nicht zusammen. Erwähnt sei noch das Schicksal der schwefelhaltigen Gruppen der Reserveproteide bei der Keimung. Abspaltung von Cystin, Cystein oder Thiomilchsäure ist bisher bei der Samenkeimung nicht konstatiert worden, doch wahrscheinlich als primärer Vorgang anzunehmen. SCHULZE, UMLAUFT und URICH (8) fanden zuerst, daß sich die Sulfate bei der Keimung auf Kosten des Eiweißschwefels vermehren. Später untersuchte TAMMANN (9) eingehend die Schicksale des Schwefels bei der Keimung der Erbse. Im ungekeimten Samen wurde der Gesamt-S als SO_3 bestimmt; gefunden wurden 0,356—0,362%. Hiervon waren als SO_3 präformiert 0,067—0,073%, also etwa $^1/_5$ des Gesamt-S. Ätherschwefelsäuren waren nur spurenweise vorhanden. Bei der Keimung im Dunklen nahm die SO_3-Menge zu und erreichte ihr Maximum in der dreifachen Anfangsmenge binnen 10 Tagen. Nach 24stündiger Quellung und 25tägiger Vegetation im Dunklen enthielten die Keimlinge 0,191% SO_3, im Licht erwachsen aber 0,152% ihres ursprünglichen Gewichtes. Ätherschwefelsäuren waren bei Dunkelpflanzen bedeutend weniger als bei den Lichtpflanzen, die davon 0,019% aufwiesen. Im übrigen sind die Verhältnisse des Schwefels bei der Keimung noch unerforscht. Die von GOLA (10) in Wurzel- und Sproßspitzen beobachtete LEGALsche Probe mit Nitroprussidnatrium und Soda wurde auf Gegenwart von Cystein bezogen. Jedenfalls betrifft sie bereits Neubildungsprozesse im Eiweißumsatze.

---

1) EM. FISCHER, Ber. chem. Ges., *47*, 2611 (1914). E. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *105*, 258 (1919). — 2) TR. B. JOHNSON u. C. O. JOHNS, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 545 (1914); THANNHAUSER u. DORFMÜLLER, Ber. chem. Ges., *47*, 1304 (1914). — 3) LEVENE u. SENIOR, Journ. Biol. Chem., *25*, 607 (1916); ebenda, *18*, 305 (1914). — 4) E. SCHULZE u. E. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 211 (1904). — 5) L. MAQUENNE u. L. PHILIPPE, Compt. rend., *138*, 506; *139*, 840 (1904). Bull. Soc. Chim. (3), *33*, 103 (1905). — 6) E. SCHULZE, Ber. chem. Ges., *30*, 2197 (1897). — 7) E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *46*, 383 (1895). Ztsch. physiol. Chem., *17*, 193 (1892); *11*, 365 (1887); *12*, 405 (1888). — 8) E. SCHULZE, W. UMLAUFT u. A. URICH, Ber. chem. Ges., *9*, 1314 (1876). SCHULZE, Ebenda, *11*, 1234 (1878). Landw. Jahrb., *7*, 438 (1878). — 9) G. TAMMANN, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 416 (1885). — 10) G. GOLA, Malpighia, *16*, 368 (1903).

Durch TAMMANN wurde auch die Phosphorsäure in ihren Veränderungen bei der Keimung näher verfolgt. Entgegen den früheren Angaben von KELLNER (1) nimmt die Menge der freien Phosphorsäure bei der Keimung zu. Ungekeimte Erbsen enthielten in TAMMANNS Versuchen 0,324 % P_2O_5. 12tägige etiolierte Keimlinge 0,443%. Später kam SCHIMPER (2) auf Grund mikrochemischer Beobachtungen zu demselben Ergebnisse, welches POSTERNAK (3) in Zweifel zog, IWANOFF (4) jedoch auf Grund besserer Methoden bestätigen konnte. Dem letztgenannten Autor zufolge vermögen die Cotyledonen von Phaseolus und Vicia diese Bildung von „inorganischem Phosphat“ aus organischen P-Verbindungen wahrscheinlich nicht zu vollziehen, während die Abspaltung von Phosphorsäure in Wurzel und Hypocotyl reichlich vor sich geht. In einer weiteren Arbeit teilt IWANOFF (5) folgende Analysenergebnisse mit: Vicia sativa. Von der Gesamtphosphorsäure fallen auf:

	im Samen	10 täg.	20 täg.	27—29 täg.	40 täg. Keimlinge
Inorgan. Phosphat .	11,4	48,1	81,6	80,2	93,7 %
Lecithine	11,6	—	—	6,6	— %
Eiweißstoffe . . .	52,5	37,4	15,0	13,7	0,0?%
Organ. Phosphate .	25,7	9,8	0,0	5,1	— %

Aus diesen allerdings noch weiter auszudehnenden Beobachtungen geht hervor, daß sowohl Lecithide als phosphorhaltige Proteide bei der Abspaltung der Phosphorsäure im Keimungsprozesse beteiligt sind. Auch ANDRÉ erkannte (6), daß hierbei Lecithide und Proteide eine Rolle spielen. ZALESKI (7) bestimmte für Dunkelkeimlinge von Lupinus angustifolius folgende Werte:

	10 täg.		15 täg.		25 täg. Keimlinge	
	Achsenorg.	Cotyl.	Achsenorg.	Cotyl.	Achsenorg.	Cotyl.
Gesamt-P als $Mg_2P_2O_7$	0,3023	0,5075	0,4656	—	0,5137	0,2784
Lecithin-P „ „	0,0144	0,2520	0,0159	—	0,0200	0,0525
Eiweiß-P „ „	0,0174	0,0300	0,0160	—	0,0158	—
Phosphat-P „ „	0,2018	0,1640	0,2634	—	0,4014	—

Auf die Frage, welchen Anteil der in Pflanzensamen verbreitete Inositphosphorsäureester oder Phytin an dem Phosphorumsatze nimmt, wird noch an anderer Stelle zurückzukommen sein. Die von PATTEN und HART (8) in Weizenkleie aufgefundene phosphororganische Substanz ist nicht Phytin, sondern stellt nach ANDERSON (9) eine N-haltige Phosphorverbindung vor, die auch Inosit liefert. Ihre Brucinverbindung bildet lange weiße Nadeln vom F 196-8°. Das Barytsalz gibt bei der Hydrolyse mit Schwefelsäure Pentose und eine freie Säure $C_{20}H_{55}O_{49}P_9$. Doch scheint es mir möglich, daß diese Substanz mit N-haltigen Verbindungen verunreinigte Inositphosphorsäure darstellt.

In methodischer Hinsicht ist bezüglich Nachweis und Isolierung der einzelnen Produkte des Eiweißabbaues bei der Keimung vor allem auf die zahlreichen äußerst sorgfältigen Arbeiten von E. SCHULZE mit seinen Mitarbeitern E. WINTERSTEIN, CASTORO und vielen anderen (10) hinzuweisen,

---

1) O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *17*, 408 (1874). — 2) SCHIMPER, Flora (1890). — 3) POSTERNAK, Rev. gén. Botan. (1900), Nr. 133. — 4) L. IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 365 (1901). — 5) IWANOFF, Phosphorverwandlung bei der Keimung der Samen (1902) (russisch), zit. von ZALESKI, l. c. — 6) ANDRÉ, Compt. rend., *132* (1901). — 7) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *20*, 426 (1902). — 8) PATTEN u. HART, Journ. Amer. Chem. Soc., *31*, 566 (1904). — 9) R. J. ANDERSON, Journ. Biol. Chem., *12*, 447 (1912). — 10) E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *33*, 124 (1887); Ztsch. physiol. Chem., *22*, 411 (1896); SCHULZE u. CASTORO, l. c. SCHULZE,

die auch in übersichtlichen Zusammenstellungen veröffentlicht worden sind, so daß wir auf dieselben kurz verweisen können. Die Estermethode nach E. FISCHER scheint bisher extensiv auf den Keimungsstoffwechsel noch nicht angewendet worden zu sein. Es ist wohl anzunehmen, daß noch nicht alle Verbindungen bekannt sind, die beim Umsatze der Samenreserveproteide in der Keimung entstehen.

Zur raschen Orientierung über den Fortgang des Eiweißumsatzes steht wohl gegenwärtig die Formol-Titrierung nach SÖRENSEN obenan (**1**).

Wenig Wert kann man dem Versuche von BELZUNG (**2**) zusprechen, die Aminosäuren an Schnitten aus Keimpflanzen, welche in konzentriertes Glycerin eingelegt wurden, mikroskopisch zu diagnostizieren.

§ 4.

Sekundäre Veränderungen der primären Produkte der Eiweißspaltung und der Vorgang der Eiweißregeneration in der Keimpflanze.

Seit LIEBIG (**3**) 1844 die Eiweißbildung in der Pflanze durch eine Entstehung der Proteinstoffe aus Zucker und Ammoniak erklären wollte, hat keine Erscheinung in der Geschichte des Problems des Eiweißumsatzes in Keimpflanzen eine größere Bedeutung erlangt, als die durch PASTEUR entdeckte auffallende Ansammlung von Asparagin in verdunkelten Keimpflanzen von Leguminosen, besonders nachdem PFEFFER 1872 nachgewiesen hatte, daß Verarmung an Zucker in den verdunkelten Keimlingen die Proteinsynthese hemmt und die Anhäufung von Asparagin begünstigt. Die nächstliegende Annahme, daß das Asparagin als Zwischenprodukt im normalen Gange des Stoffwechsels vom Reserveprotein zum neugebildeten Eiweiß aufzufassen sei, fand zahlreiche Vertreter, und es fehlte nicht an Versuchen, den Prozeß der Eiweißbildung aus Asparagin und Zucker durch chemische Gleichungen zu illustrieren (**4**). Die Arbeiten von SCHULZE förderten hierauf manche Tatsache zutage, welche geeignet war, diese Auffassung zu modifizieren. Es ergab sich einmal die bereits von PFEFFER ins Auge gefaßte Tatsache, daß statt Asparagin auch andere Aminoderivate, wie Glutamin, Arginin, dominieren können; sodann ließ sich in manchen Fällen die Ähnlichkeit der Zusammensetzung des Aminosäurengemisches in Keimpflanzen mit der Zusammensetzung von Eiweißhydratationsgemischen nicht verkennen. Der wegen seiner Einseitigkeit nicht geglückte Versuch SCHULZES, das Dominieren einzelner Aminosäuren durch Nichtverbrauch derselben zu erklären, und so die Auffassung, daß primär eine normale Eiweißhydrolyse stattfindet, mit der so auffällig differenten Zusammensetzung des Aminosäurengemisches in Keimlingen in Einklang zu bringen, mußte einer anderen Auffassung weichen. Wir haben die Differenzen in der zwischen den quantitativen Verhältnissen der künstlichen Spaltungsprodukte des Reserveproteins und

---

Ztsch. physiol. Chem., *24*, 18 (1897); SCHULZE u. BOSSHARD, Ebenda, *9*, 443; SCHULZE, Journ. f. Landw., *52*, 305 (1904); Landw. Jahrb., *35*, 621 (1906); SCHULZE u. WINTERSTEIN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *2*, 510 (1910).

1) Vgl. H. SERTZ, Biochem. Ztsch., *93*, 253 (1919). L. ADLER, Ztsch. ges. Brauwes., *37*, 105 (1914). LANGKAMMERER u. LEBERLE, Ebenda, *42*, 236 (1919). — **2**) E. BELZUNG, Ann. Sci. Nat. Botan. (7), *15*, 203 (1893); Journ. de Botan. (1893), p. 87. Kritik: SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *20*. — **3**) J. LIEBIG, Lieb. Ann., *51*, 287 (1844). — **4**) Vgl. z. B. HENNEBERG, Landw. Vers.stat., *16*, 184 (1873).

der in keimenden Samen vorkommenden Amidgemische vor allem auf sekundäre, sich unmittelbar an die Proteolyse anschließende Vorgänge zurückzuführen.

Allerdings besteht in manchen Fällen eine deutliche Konkordanz zwischen den Hydratationsprodukten der Reserveproteide und der Zusammensetzung der Keimlinge. So kann man ungezwungen den reichlichen Arginingehalt von Coniferenkeimlingen mit dem hohen Gehalt der Reserveproteide von Coniferensamen an Diamino-N in Beziehung setzen. Man darf noch manchen analogen Befund erwarten. Im Gegensatz dazu beobachtet man andererseits, daß Aminosäuren, die bei der Eiweißhydrolyse reichlich erhalten werden, ganz verschwinden oder sich wenigstens auffallend vermindern. So wird bisher das Alanin, welches bei jeder Proteinspaltung erhalten wird, von Keimlingen nicht angegeben, und es ist wahrscheinlich, daß dieser Stoff rasch aufgebraucht wird. Auch die stark schwankenden Befunde für Tyrosin, das einen integrierenden Eiweißbestandteil darstellt, deuteten schon lange darauf hin, daß sich ein rascher Umsatz an die Tyrosinabspaltung anschließt. Wie Bertel (1) fand, läßt sich an Keimlingen von Lupinus albus durch Sauerstoffabschluß oder Chloroformieren eine starke Anhäufung von alkohollöslichen, stark Silber reduzierenden Stoffen im Hypocotyl beobachten, welche bei normalen Keimpflanzen fehlen. Da nun der Keimlingsbrei aus Tyrosin im Laufe der Autolyse große Mengen derselben reduzierenden Stoffe zu bilden imstande ist, wobei zugesetztes Tyrosin verschwindet, so ist es sehr wahrscheinlich, daß auch die ganze in den Keimlingen bei Chloroformwirkung auftretende Masse reduzierender Stoffe dem Tyrosinumsatz entstammt. Es ist noch zu entscheiden, ob dieses Produkt, wie Bertel annahm, Schulze (2) jedoch in Abrede stellte, mit der im tierischen Stoffwechsel aus Tyrosin intermediär hervorgehenden Homogentisinsäure zusammenfällt, oder ob es sich um Dioxyphenylalanin, Brenzcatechin oder andere Stoffe von ähnlichem Verhalten handelt. Jedenfalls muß aber bei diesem Prozesse das Tyrosin durch ein Ferment, Tyrosinase, unter Ammoniakabspaltung und Oxydation zunächst die erwähnten oxydablen aromatischen Derivate liefern, welche im normalen Stoffwechsel offenbar rasch weiter verbrannt werden und sich nur in der Chloroformnarkose anhäufen.

Für den Stoffumsatz in Keimpflanzen ist es in neuerer Zeit immer wahrscheinlicher geworden, daß fermentative Desamidierung, Freiwerden von Ammoniak auf Kosten des Monamino- und Diaminostickstoffes eine bedeutsame Rolle spielt. Eine Reihe von Untersuchungen (3) hat ge-

---

1) R. Bertel, Ber. bot. Ges. (1902), *20*, 454; Czapek u. Bertel, Jahrb. wiss. Bot., *43*, 361 (1906). Gonnermann, Pflüg. Arch., *82*, 289 (1900) über Homogentisinsäure in der Zuckerrübe. Bourquelot u. Hérissey, Journ. Pharm. et Chim. (6), *8*, 385 (1898) führten die Schwarzfärbung der Hülsen von Vicia Faba auf Tyrosin und dessen enzymatische Spaltungsprodukte zurück. Tyrosinase: auch C. Gessard, Compt. rend., *138*, 774 (1904). R. Chodat u. K. Schweizer, Arch. Sci. Phys. Genève (4), *35*, 140 (1913). — 2) E. Schulze u. Castoro, Ztsch. physiol. Chem., *48*, 396 (1906). Homogentisinsäure in tier. Stoffwechsel: Wolkow u. E. Baumann, Ebenda, *15*, 228 (1891). Baumann, Ebenda, *16*, 268 (1892); *20*, 219 (1894). W. Falta u. Langstein, Ebenda, *37*, 513 (1903). Abderhalden u. Falta, Ebenda, *39*, 143 (1903). O. Neubauer u. Falta, Ebenda, *42*, 81 (1904). Huppert, Ebenda, *23*, 412 (1897). — 3) Wl. Butkewitsch, Biochem. Ztsch., *16*, 411 (1909); *41*, 431 (1912); N. Castoro, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 525 (1906); A. Kiesel, Ebenda, *60*, 453 (1909); Butkewitsch, Ebenda, *63*, 103 (1909). W. Zaleski, Ber. bot. Ges., *25*, 357 (1907). Palladin u. N. Ivanow, Bull. Ac. Imp. Sci. St. Petersburg (1912), p. 573. M. Molliard, Bull. Soc. Bot., *56*, 332 (1909).

zeigt, daß bei der Autolyse von Keimlingen Ammoniak-N gebildet wird. Kiesel fand binnen 25 Tagen 13,61 % des Gesamt-N an NH_3 gebildet, gegen 2,4 % im Kontrollversuche. Auch an den lebenden Keimlingen läßt sich das Ansteigen des Amid-N verfolgen (1).

Ein interessanter neuerer Befund betrifft das anscheinend nicht seltene Vorkommen einer kräftig wirksamen Urease in Pflanzensamen. Nach Zemplén (2) enthalten die meisten Leguminosensamen, so der Samen von Robinia pseudacacia, reichlich Urease, Takeuchi (3) fand sie in den ruhenden und keimenden Samen von Glycine hispida, und nach Falk (4) findet sich das Enzym auch in Ricinussamen. Doch ist Ricinus-Urease weniger aktiv als Soja-Urease. Ein sehr wirksames Enzym wurde aus dem Samen von Canavalia erhalten (5). In Getreidesamen kommt Urease ebenfalls vor (6). Man wird nicht fehlgehen, der Urease eine Bedeutung beim Umsatze des aus Arginin durch die Wirkung der Arginase entstehenden Harnstoffes zuzuschreiben, doch ist vielleicht damit ihre Rolle nicht erschöpft, wenn man auch angesichts der durch Armstrong (7) sichergestellten strengen Spezifität der Urease nicht annehmen kann, daß auch andere Amide durch dieses Ferment angegriffen werden.

Die früher mehrfach ausgesprochene Meinung, daß ein Teil des Stickstoffes der Reserveproteide im Keimungsumsatze als freier Stickstoff ausgeschieden werden (8), hat sich durch kritische neuere Untersuchungen als unhaltbar erwiesen (9). Desgleichen ist es durch die vorliegenden Arbeiten hinreichend erhärtet, daß die von Belzung und anderen Autoren vertretene Ansicht, als ob in Keimpflanzen auf Kosten des Eiweißstickstoffes Salpetersäure gebildet werde, nicht zutreffend sein kann (10).

Wenn man die Bedeutung der Ansammlung einzelner Aminosäuren, vor allem des Asparagins, in verdunkelten Keimpflanzen richtig würdigen will, so muß man vorerst davon absehen, aus dieser Ansammlung und Umsetzung direkt eine besondere Eignung dieser Aminosäure für die Eiweißregeneration folgern zu wollen. Hartwig (11), dem das Verdienst

---

1) Für Phaseolus lunatus: Sh. Suzuki, Journ. biol. Chem., *3*, 265 (1907). — 2) G. Zemplén, Ztsch. physiol. Chem., *79*, 229 (1912); Ztsch. angew. Chem., *35*, 1560 (1912). — 3) T. Takeuchi, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 1 (1909). Soja-Urease: van Slyke u. Cullen, Proc. Soc. Exp. Biol., *11*, 65 (1914); Journ. Amer. Med. Assoc., *62*, 1558; Eigenberger, Ztsch. physiol. Chem., *93*, 370 (1915); Jansen, Chem. Weekbl., *12*, 483 (1915); Street u. Bailey, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 853 (1915). Gröll, Chem. Weekbl., *13*, 254 u. 333 (1916). de Graaff, Ebenda, p. 258. Wester, Pharm. Zentr. Halle, *57*, 423 (1916). Einflüsse: Marshall jun., Journ. Biol. Chem., *17*, 351 (1914). Jacoby, Biochem. Ztsch., *69*, 116, 134 (1915); *68*, 23 (1914). van Slyke, Journ. Biol. Chem., *19*, 181 (1914). Onodera, Biochem. Journ., *9*, 544 (1915). Wirkungsgesetz: van Slyke u. Cullen, Journ. Biol. Chem., *19*, 141, 211 (1914); Labberté, Pharm. Weekbl., *52*, 1428 (1915). Adsorption: Jacoby, Biochem. Ztsch., *74*, 93 (1916). Über ein Coenzym der Urease: N. Onodera, Biochem. Journ., *9*, 575 (1915). Nachweis von Urease in Keimlingen: R. Fosse, Compt. rend., *158*, 1374 (1914). Compt. rend. Soc. Biol., *77*, 129 (1914). — 4) K. Geo. Falk, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 292 (1913). Falk u. Sugiura, Ebenda, *36*, 2166 (1914). — 5) Annett, Biochem. Journ., *8*, 449 (1914). Mateer u. Marshall, Journ. Biol. Chem., *25*, 297 (1916). — 6) A. Němec, Biochem. Ztsch., *91*, 126 (1918). — 7) H. E. Armstrong u. E. Horton, Proc. Roy. Soc., B, *85*, p. 109 (1912). — 8) Mulder, Physiol. Chem. (1844), p. 849; M. Schulz, Journ. prakt. Chem., *87*, 129 (1862). — 9) Atwater u. Rockwood, Amer. Chem. Journ., *8*, 327 (1887). Th. Schloesing, Compt. rend., *120*, 1278 (1895). N. Castoro, Landw. Vers.stat., *60*, 41 (1904). — 10) E. Schulze, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 82 (1896). — 11) Th. Hartig, Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims (1858), p. 128.

zuzuschreiben ist, die große Verbreitung des Asparagins bei der Keimung frühzeitig erkannt zu haben, nahm für das „Gleis", wie er die krystallisierbaren Produkte des Eiweißzerfalles nannte, eine ähnliche Rolle an, wie für den Zucker im Kohlenhydratstoffwechsel. Auch Borodin (1) meinte, es gehöre zum normalen Eiweißstoffwechsel, daß fortwährend Asparagin gebildet und weiterverarbeitet werde. Wenig begründete Hypothesen, welche dem Asparagin eine konstante wichtige Rolle bei der Eiweißregeneration zuschrieben, waren jene von C. O. Müller (2) und von Mercadante (3). Andererseits hatte Boussingault (4) das Asparagin geradezu für ein dem Harnstoff vergleichbares Endprodukt erklärt, das jedoch durch Vermittlung der Wirkung des Lichtes noch Verwendung im Stoffwechsel finden könne.

In einer ähnlichen Lage, wie die auf beschränkten Kohlenhydratvorrat gesetzte verdunkelte Keimpflanze, die sich hinsichtlich ihrer Eiweißbildung auf Grund der vorhandenen Eiweißzerfallsprodukte nun passend einzurichten hat, befindet sich auch ein Schimmelpilz, den man etwa auf Peptonlösung ohne Zuckerzusatz oder einem anderen an passenden N-Verbindungen reichem aber an Zucker armen Substrate zieht. Wir wissen von solchen Pilzkulturen, daß sie reichlich oxalsaures Ammonium bilden, dessen Entstehung durch die Annahme von Desamidierungsvorgängen und oxydativen Veränderungen an den dargereichten Aminosäuren verständlich gemacht werden kann. Für die Asparaginbildung liegen die Dinge sicher viel schwieriger. Daß oxydative Vorgänge bei der Entstehung und Speicherung von Asparagin stattfinden, ist von mehreren Seiten, wie von Palladin, O. Loew, Schulze und Castoro (5), nicht ohne Berechtigung behauptet worden. Vor allem ist es bemerkenswert, daß die Asparaginbildung ausbleibt, wenn man den Keimlingen den Sauerstoff entzieht. Die andere Seite der Frage, die Desamidierung und Ammoniakbildung in ihrer Beziehung zur Asparaginspeicherung, hat O. Loew und besonders Prianischnikow (6) berührt und angenommen, daß die Asparaginbildung ein Mittel sei, das abgespaltene Ammoniak zu speichern, ähnlich wie man es sich auch für die Rolle der Oxalsäure bei den Peptonkulturen von Pilzen denken kann. Da aber jede festere chemische Grundlage zur Beurteilung aller dieser Vorgänge fehlt, so muß man sich gestehen, daß die Genese der Asparaginspeicherung derzeit noch gänzlich in Dunkel gehüllt ist. Möglich wäre es dennoch, die Beobachtungen an Peptonkulturen von Pilzen in der Weise heranzuziehen, daß man versucht, die Ammoniumoxalatbildung durch Zusatz verschiedener Aminosäuren hindernd zu beeinflussen. Daß Leuchtgasspuren in der Luft einen Reiz zu stärkerer Asparaginbildung geben, hat Prianischnikow (7) behauptet, Schulze jedoch nicht bestätigt (8). Nach den Darlegungen von Prianischnikow (9) findet ein Parallelismus zwischen der Kurve des Eiweiß-

---

1) Borodin, Botan. Ztg. (1878), p. 801. E. Schulze, Landw. Jahrb. (1880), p. 730. — 2) C. O. Müller, Diss. (Leipzig 1886). Ein Beitrag zur Kenntnis der Eiweißbildung. — 3) Mercadante, Ber. chem. Ges., *8*, 823 (1875). — 4) Boussingault, Compt. rend., *58*, 917. Prianischnikow, Landw. Vers.stat., *46*, 458 (1896). — 5) W. Palladin. Ber. botan. Ges., *7*, 126 (1889). O. Loew, Journ. prakt. Chem., *31*, 137; Chem.-Ztg. (1896). Prianischnikow, Landw. Vers.stat., *46*, 450 (1896) nahm eine mehr unentschiedene Stellung in dieser Frage ein. E. Schulze u. Castoro, l. c. (1903), p. 202. — 6) D. Prianischnikow, Russ. Journ. f. exp. Landwirtsch., *13*, Heft 5 (1912). Rev. gén. Bot., *25*, 5 (1913); Prianischnikow u. J. Schulow, Ber. bot. Ges., *28*, 253 (1910). — 7) Prianischnikow, Ebenda, *22*, 38 (1904). — 8) E. Schulze, Ztsch. physiol. Chem., *47*, 560 (1906). — 9) Prianischnikow, Ber. bot. Ges., *17*, 151 (1899).

zerfalles und derjenigen der Asparaginbildung in der Keimpflanze statt und die beiden Maxima fallen zeitlich sehr nahe aneinander.

Aus den Beobachtungen von SCHULZE (1) geht hervor, daß in Keimlingen der Eiweißverlust und die Asparaginbildung im Dunklen umso energischer ist, je weniger stickstoffreies Reservematerial im Verhältnis zu Eiweißstoffen vorhanden ist. Je mehr N-freies Reservematerial zur Verfügung steht, desto weniger weit geht die Verarmung an Eiweiß. In dieser Hinsicht ist es biologisch bemerkenswert, daß kohlenhydratreiche Samen in der Regel relativ viel weniger Eiweißstoffe als Reservematerial speichern, als Fettsamen, bei denen die Mobilisierung des N-freien Materiales wahrscheinlich nicht so rasch möglich ist. Versuche von PRIANISCHNIKOW (2) und SCHULZE (3) haben gezeigt, daß asparaginreiche Keimlinge, wenn sie wieder an das Licht gebracht werden und assimilieren können, nicht sofort Abnahme des Asparagins zeigen, sondern ihr Asparagin zunächst weiter vermehren, und erst wochenlang nachher Asparaginverminderung aufweisen können. Natürlich darf man daraus keinen Beweis gegen die Bedeutung des Asparagins im Eiweißstoffwechsel konstruieren, wenn auch unter diesen speziellen Bedingungen trotz Lichtzutritt und Kohlenhydratbildung nicht sofort ein rascher Verbrauch des Asparagins einsetzt.

Im übrigen ist hinsichtlich der kausalen Beziehung zwischen Zuckerverarmung und Asparaginspeicherung, welche durch PFEFFER aufgedeckt worden ist, wenig Neues in der Folgezeit an Tatsachen hinzugekommen. KINOSHITA und LOEW (4) gaben an, daß man nicht nur durch Zuckerzufuhr, sondern auch durch Darreichung von 1 % Glyzerin bei verdunkelten Sojakeimlingen die Asparaginbildung verhindern und die Eiweißregeneration unterhalten könne; sogar Methylalkohol soll eine Wirkung entfalten.

Daß der Prozeß der Asparaginspeicherung und Eiweißregeneration auch von Faktoren abhängen kann, welche bisher gar nicht berücksichtigt wurden, zeigen die Befunde von G. BALICKA IWANOWSKA (5), wonach die Abwesenheit von Mineralsalzen im Substrate die Anhäufung von Asparagin in Keimlingen begünstigt. Es scheint hierbei ein Mangel an Kalksalzen eine Rolle in der Behinderung der Eiweißregeneration zu spielen. Übrigens waren diese Pflanzen am Lichte kultiviert, und es ist möglich, daß der Einfluß als ein indirekter, auf dem Wege einer Beeinflussung der Assimilationsenergie zustandekommender, zu betrachten ist.

Der Prozeß der Eiweißregeneration selbst muß als gänzlich unbekannt angesehen werden und es ist mir nicht möglich, den Folgerungen von O. LOEW (6) zugunsten einer hohen Bedeutung des Asparagins für die Konstitution und den Aufbau der Eiweißstoffe beizustimmen. Daß auch Reizwirkungen im Sinne einer Förderung der Eiweißregeneration vorkommen können, haben die Erfahrungen von ZALESKI (7) über Ätherisierung gezeigt.

1) E. SCHULZE, Landw. Jahrb., *17*, 683 (1888); *27*, 516 (1898). Ztsch. physiol. Chem., *24*, 18 (1897). — 2) PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *52*, 347 (1899). — 3) E. SCHULZE, Ebenda, *55*, 33 (1901). Zur Biochemie des Asparagins ferner PRIANISCHNIKOW, Ber. bot. Ges., *22*, 81 (1904). E. SCHULZE, Ebenda, *25*, 213 (1907). A. EMMERLING, Landw. Vers.stat., *45*, 215 (1900). — 4) Y. KINOSHITA, Jahresber. Agr. Chem. (1895), p. 187. O. LOEW, Chem.-Ztg. (1896), Nr. 16. — 5) G. BALICKA IWANOWSKA, Bull. Acad. Cracov. (1903). — 6) O. LOEW, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *2*, 393 (1897). — 7) W. ZALESKI, Botan. Zentr., *87*, 277 (1901).

Vierzigstes Kapitel: **Die Bildung der Reserveproteide während der Samenreifung.**

Die bezüglich der Eiweißbildung in reifenden Samen vorliegenden Untersuchungen haben ergeben, daß die unreifen Samen größere Mengen von Aminosäuren enthalten, und daß dieselben bei der Anhäufung des Eiweißes verschwinden. Hinsichtlich der näheren Details dieses Vorganges ist aber noch viel weniger bekannt, als beim Gegenstück dieser Umsetzungen in der Samenkeimung. Zunächst seien einige Fälle besprochen, die geeignet sind, uns ein Gesamtbild des Stickstoffumsatzes in der Samenreifung zu geben. Am meisten untersucht sind Leguminosen und Cerealien. André (1) hat gezeigt, wie hier das Eiweiß erst in der letzten Phase in größeren Mengen erscheint, und das Maximum des Stickstoffgehaltes der Gerste nicht am Ende der Reifung liegt, sondern früher fällt, offenbar weil später noch namhafte Mengen von stickstoffreien Materialien eingelagert werden. Zuletzt enthält die Gerste um 16,4 % weniger N als im Maximum. Schulze gab für die Reifung des Samens von Lupinus luteus folgende Zahlen bezüglich der Abnahme des Amid-N bei der Reifung:

	22. Juli	12. Aug.	19. Aug.	26. Aug.	13. Sept.
Der Amid-N betrug:	1,36	0,316	0,306	0,364	0,123

Die Samen von Lupinus albus wurden ferner durch Wassilieff (2) in verschiedenen Reifungsstadien untersucht:

Reifungsstadien:	Unreife Samen I	II	III	IV	Reife Samen
Gewicht von 100 Samen in Gramm	3,52	7,58	28,30	41,00	51,46
Gewicht von 100 Samen in Proz. des Gewichtes der reifen Samen .	7,00 %	15,00 %	55.00 %	80,00 %	100,00 %
N in Eiweißstoffen	50,96 %	62,71 %	90,60 %	93,61 %	90,97 %
Asparaginstickstoff	28,45 %	19,58 %	4,79 %	1,04 %	—
Phosphorwolframsäure-N	6,37 %	9,16 %	4,25 %	4,66 %	4,43 %
Anderer Amid-N	14,22 %	8,55 %	0,36 %	0,69 %	4,60 %

Während sich die Samen an Eiweiß anreichern, findet in den Hülsen nach anderen Analysen Wassilieffs eine Vermehrung der Aminosäuren statt; man darf annehmen, daß diese Stoffe aus den Hülsen in die Samen einwandern. Doch findet nachweislich auch bei Samen, welche aus den Hülsen in unreifem Zustande herausgenommen wurden, eine Eiweißvermehrung statt. Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kam Pfenninger (3) bei der Untersuchung von reifenden Phaseolusfrüchten. Er macht aber darauf aufmerksam, daß reife Samen nicht nur mehr Eiweiß, sondern auch mehr Aminosäuren enthalten können, als die unreifen Stadien.

	100 Stück Samen enthielten: Gesamt-N	Protein-N	Nichtprotein-N
I. Entwicklungsstadium . . .	0,0284	0,0204	0,0080
II. „ . . .	0,3325	0,2858	0,0467
III. „ . . .	1,9030	1,8040	0,0989

1) G. André, Compt. rend., *140*, 1417 (1905); *154*, 1627 (1912). — 2) N. Wassilieff, Ber. bot. Ges., *26*, 454 (1908). — 3) U. Pfenninger, Ebenda, *27*, 227 (1909).

Emmerling (1) untersuchte den reifenden Samen der Vicia Faba. In Prozenten der Trockensubstanz war im Samen und in den Hülsen folgende Menge an Stickstoff in den verschiedenen Formen enthalten:

In den Samen:	Gesamt-N	Eiweiß-N	Nicht-protein-N	Amino-säure-N	abspaltbar. Amid-N	Gesamt-Amid-N
Am 28. Juli . .	6,65	3,51	3,14	0,844	0,053	0,897
7. Aug. . .	5,10	2,95	2,15	0,887	0,225	1,112
13. „ . .	—	—	—	—	—	—
18. „ . .	8,77	7,63	1,14	0,342	0,153	0,485
1. Sept. . .	4,38	3,93	0,45	0,142	0,076	0,218
9. Okt. . .	4,43	4,20	—	0,045	0,055	0,100
In den Hülsen:						
Am 28. Juli . .	4,36	2,44	1,92	0,981	—	—
7. Aug. . .	3,11	1,61	1,50	—	0,329	1,310
13. „ . .	—	—	—	—	—	—
18. „ . .	2,64	1,68	0,95	0,542	0,018	0,560
1. Sept. . .	2,23	1,68	0,55	0,365	0,057	0,422
9. Okt. . .	1,62	1,09	0,53	0,024	0,007	0,031

Auch die Versuche von Zaleski (2) an Pisum fanden eine Zunahme an Eiweißstoffen im unreifen Samen von Verminderung an Aminosäuren und Amiden begleitet.

Über die Reifung der Cerealienfrüchte sind Untersuchungen erst in neuerer Zeit hinzugekommen. Nedokutschajew (3) fand auch hier, daß mit dem Anwachsen des Gewichtes und der Trockensubstanzmenge des Kornes der Eiweiß-N zunimmt, während der Nichtprotein-N, besonders der Asparagin-N, allmählich schwindet. Im Verhältnis zum Gesamt-N nahm der Protein-N stets zu, und der Nichteiweiß-N ab. Im Verhältnis zum Korngewicht kann wie bei Triticum und Secale der Gesamt-N mit der Reife abnehmen, oder wie bei Avena und Hordeum zunehmen. Dem genannten Autor zufolge lassen sich im unreifen Weizen Proteosen nachweisen, und in allen Reifungsstadien reichliche Mengen von Phosphorwolframsäurefällbarem N. Xanthinbasen wurden nur in geringer Menge vorgefunden.

Sehr eingehend ist die Reifung der Gerste durch Schjerning (4) behandelt worden, dessen Angaben wir die nachfolgenden Tabellen entnehmen. Die mit I bis VI bezeichneten untersuchten Reifungsstadien sind: I. am 24. Juli, grünreif; II. am 30. Juli, Ende der Grünreife; III. am 5. August Gelbreife; IV. am 8. August, Ende der Gelbreife; V. am 13. August, Vollreife und VI. am 19. August, überreif. Drei Versuche liefen nebeneinander.

	Gewicht von 1000 Korn in Gramm			Prozente an Trockensubstanz			N in ccm von $^{n}/_{10}$ Säure pro 100 Korn		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
I.	62,20	55,95	62,17	35,44	30,93	30,11	30,4	23,0	30,9
II.	72,76	74,61	—	46,00	36,65	—	37,6	34,4	—
III.	75,17	87,53	92,20	56,81	43,11	51,34	48,0	49,2	79,6
IV.	75,90	89,56	—	58,75	50,99	—	56,0	59,3	—
V.	61,43	83,02	69,90	72,97	59,96	66,78	60,0	74,0	81,8
IV.	48,22	71,76	58,04	82,12	67,30	70,59	53,0	75,5	74,3

---

1) A. Emmerling, Landw. Vers.stat., *34*, 1 (1887); für Lupinus auch G. André, Compt. rend., *139*, 805 (1904). Vicia sativa: J. M. Petrie, Linn. Soc. N. S. Wales Abstr. Proc. (1911), p. 1; *36*, 97 (1912). Ältere Literatur: O. Kellner, Landw. Jahrb., *8*, Suppl.bd. I (1879). Hornberger, Ebenda, *21* (1882). Landw. Vers.stat., *31*, (1885). — 2) W. Zaleski, Ber. bot. Ges., *23*, 126 (1905); Beiheft. Botan. Zentr., *27*, I, 63 (1911). — 3) N. Nedokutschajew, Landw. Vers.stat., *56*, 303 (1902); *58*, 275 (1903). — 4) H. Schjerning, Compt. rend. Carlsberg, *6*, Heft 4 (1906), p. 229.

	Trockensubstanz in 10000 Körnern			In 10000 Körnern ~ g N in Form von: Albumin I			Albumin II			Denuclein		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
I.	220,4	173,0	187,2	0,34	0,34	0,47	0,11	0,00	0,03	0,1	0,1	0,16
II.	334,7	273,5	—	0,56	0,66	—	0,16	0,06	—	0,12	0,08	—
III.	427,0	377,3	473,4	0,62	0,76	0,95	0,17	0,25	0,19	0,08	0,11	0,14
IV.	445,9	456,7	—	0,75	0,84	—	0,09	0,22	—	0,12	0,13	—
V.	448,2	497,8	466,8	0,77	0,84	0,60	0,07	0,19	0,16	0,13	0,11	0,14
VI.	396,0	483,0	409,7	0,55	0,54	0,60	0,26	0,33	0,19	0,11	0,11	0,14

	Proteosen			Pepton			Amide u. NH_3			Summe von N		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
I.	0,00	0,02	0,03	0,03	0,06	0,06	1,24	0,91	1,33	4,26	3,22	4,33
II.	0,00	0,08	—	0,04	0,06	—	0,72	0,93	—	5,26	4,82	—
III.	0,04	0,00	0,00	0,08	0,08	0,10	0,41	1,01	0,74	6,22	6,89	11,14
IV.	0,04	0,00	0,00	0,08	0,11	—	0,46	0,65	—	7,84	8,30	—
V.	0,00	0,00	0,00	0,10	0,13	0,08	0,54	0,65	0,62	8,40	10,36	11,45
VI.	0,00	0,00	0,00	0,13	0,16	0,11	0,45	0,65	0,59	7,42	10,57	10,4

Bezüglich Gerste sei noch auf die Arbeit von Reichard (**1**) hingewiesen, wo durch stufenweise Säuretitration und Formoltitration der Gehalt an Phosphat und Aminosäuren während des Reifungsvorganges verfolgt wurde. Die Reifung des Weizenkorns wurde durch Brenchley und Hall (**2**) analytisch im Hinblick auf die Entwicklung des Proteingehaltes studiert und die einschlägigen Verhältnisse anschaulich graphisch dargestellt. Bezüglich der Zusammensetzung des Aminosäuregemisches in unreifen Samen und Hülsen von Pisum enthalten neuere Arbeiten von Schulze (**3**) interessante Angaben. Während aus den Hülsen leicht große Mengen von Asparagin darzustellen waren, konnten in den reifenden Samen nur ganz geringe Mengen hiervon nachgewiesen werden. Die Samen enthielten aber etwas Glutamin und Vernin, das aus den Hülsen nicht zu gewinnen war. Ferner war Arginin wohl in den Samen reichlich, nicht aber in den Hülsen enthalten. Jedenfalls sind diese Differenzen auf Grund der Annahme eines Zuströmens der Aminostoffe aus den Hülsen in die Samen nur zum Teil verständlich, und das Eingreifen noch unbekannter Umsetzungen der Aminoverbindungen muß hier ebenso angenommen werden wie bei der Entstehung der Proteinstoffe in den Blättern. Nach Zaleski (**4**) ist bei reifenden Erbsen der Umsatz der Aminosäuren zu Eiweiß bei der Samenreifung bei Sauerstoffabschluß ungefähr auf die Hälfte herabgesetzt, was mit komplizierten, mit Oxydationen verbundenen Vorgängen in Zusammenhang gebracht werden kann. Andererseits hat Zaleski darauf aufmerksam gemacht, daß in reifenden Samen proteolytische Enzyme nachweisbar sind, und es nicht ausgeschlossen ist, daß diese Fermente bei der Eiweißbildung synthetisch wirksam sind. Allerdings sind die von Zaleski ausgeführten autolytischen Versuche in dieser Richtung ziemlich ergebnislos geblieben, und lassen keine bestimmten Folgerungen zu. In den Versuchen von Wassilieff findet sich auch die Frage berücksichtigt, welchen Einfluß Belichtung auf den Proteinbildungsprozeß während der Samenreifung hat. Es stellte sich heraus, daß man von solchen Einflüssen kaum sprechen kann. Hingegen wollte Dumont (**5**) bei der Wanderung der Stickstoffverbindungen während der Reifung des Weizenkorns eine gewisse Beeinflussung durch Lichtstrahlen erkannt haben.

---

1) A. Reichard, Ztsch. ges. Brauwes., *41*, 212 (1918). — **2**) W. E. Brenchley u. A. D. Hall, Journ. Agron. Sci., *3*, 195 (1909). — **3**) E. Schulze u. E. Winterstein, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 394 (1910); Schulze, Ebenda, *71*, 31 (1911). — **4**) W. Zaleski, Biochem. Ztsch., *23*, 150 (1909). — **5**) J. Dumont, Compt. rend., *141*, 686 (1905).

Beim Mais erscheint nach SPITZER (1) zuerst das Glutelin, dann folgen Globuline und Albumine bei der Reifung; das Zein dürfte zuletzt gebildet werden.

Kurz sei noch auf die Verhältnisse der Nucleinsäuren während der Samenreife hingewiesen. AMTHOR (2) bestimmte den Lecithin-P (I), Nuclein-P (II) und den in verdünnter Salzsäure löslichen P (III) während der Reifung der Vitissamen mit folgenden Ergebnissen:

	6. September Beeren hart, unreif	30. September Beeren werden weich	30. Oktober reife Beeren
1000 Kerne wogen .	14,5960 g	17,3229 g	18,2615 g
Phosphor I . . .	0,0039 %	0,0042 %	0,0048 %
„ II . . .	0,0365 %	0,0422 %	0,0451 %
„ III . . .	0,0043 %	0,0037 %	0,0038 %
Verhältnis I : II : III .	1 : 9,4 : 1,1	1 : 10 : 0,9	1 : 9,4 : 0,8

HANNIG (3) berichtete über Versuche, welche die Kultur von Embryonen, die unreifen Samen entnommen waren, zum Gegenstande hatten. Tatsächlich lassen sich Embryonen aus unreifen Cruciferensamen oder Grassamen mit gutem Erfolge in künstlichen Nährlösungen zum Wachstum und zur Erreichung keimfähiger Stadien bringen, während Leguminosenembryonen bisher versagten. Obgleich die Cruciferenembryonen wie Rhaphanus, Cochlearia, in Zuckerlösung unter Zusatz von Mineralsalzen und Kaliumnitrat oder Asparagin Wachstum zeigten, so war dennoch nach den Angaben von HANNIG an ihnen keine Zunahme des absoluten Stickstoff- und Eiweißgehaltes nachzuweisen. Nur bei Darreichung von Proteosen, Wittepepton, glaubte HANNIG einen namhaften Eiweißgewinn der Embryonen beobachtet zu haben. Doch würden zu letzterem Schlusse noch weitere Untersuchungen erwünscht sein, wobei Rhaphanusembryonen ein sehr geeignetes Material zu sein scheinen. Die Versuche von LEFÈVRE (4) an Zea und Phaseolus beziehen sich auf bereits reife Embryonen.

Einundvierzigstes Kapitel: Der Eiweißstoffwechsel unterirdischer Speicherorgane.

§ 1.

Die Reserveproteide in unterirdischen Speicherorganen.

Die bisher angestellten Untersuchungen haben ergeben, daß die Verhältnisse der Reserveproteide in unterirdischen Speicherorganen im ganzen viele Ähnlichkeiten mit den Verhältnissen, welche wir bezüglich der Samenproteide darlegen konnten, aufweisen. Doch wurden über manche wichtige Einzelheiten bisher noch keine Aufschlüsse gegeben.

So sind die Aleuronkörner in unterirdischen Reservestoffbehältern noch sehr wenig studiert, und es ist unbekannt, in welcher Form hier das Reserveeiweiß vorkommt. POTTER (5) gab an, zahlreiche Rhizome

---

1) G. SPITZER, CARR u. EPPLE, Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 1212 (1919). — 2) C. AMTHOR, Ztsch. f. physiol. Chem., *9*, 138 (1885). — 3) E. HANNIG, Botan. Ztg. (1904), I, 45. — 4) J. LEFÈVRE, Compt. rend., *147*, 935 (1908). — 5) C. POTTER, Proc. Cambridge Phil. Soc., *4*, 331 (1883). Für Grasrhizome: F. WILLE, Beiheft. bot. Zentr., *33*, I, 1 (1915).

und Knollen untersucht zu haben, ohne daß sich Proteinkörner oder Eiweißkrystalle darin hätten nachweisen lassen. Nur in den Zwiebeln von Narcissus poeticus fanden sich ziemlich große Aleuronkörner einzeln in den Zellen. Bekannt sind ferner die in den äußersten Parenchymlagen der Kartoffelknolle vorkommenden Eiweißkrystalle.

Genauer chemisch untersucht sind erst sehr wenige Reserveproteide von unterirdischen Speicherorganen. Am besten bekannt ist das Reserveproteid der Kartoffel, mit welchem sich Ritthausen und Zöller (**1**) beschäftigten, und das Osborne und Campbell (**2**) als Tuberin bezeichnet haben. Schon Zöller hob hervor, daß diese Substanz globulinartige Eigenschaften besitzt. Sie ist in 10% NaCl löslich und teilt die Haupteigenschaften mit den Globulinen aus Samennährgewebe. Die Analyse ergab 53,61% C, 6,85% H, 16,24% N, 1,25% S und 22,05% O. Aus seiner Lösung in Kochsalz ist es durch Ansäuern mit Essigsäure fällbar, durch $MgSO_4$ ist es aussalzbar, ebenso durch NaCl und $(NH_4)_2SO_4$, und es koaguliert bei 60—65° C. In Begleitung dieses Stoffes wurden ganz geringe Mengen von Proteosen gefunden. Das von Zöller angegebene Albumin der Kartoffel bleibt noch zu bestätigen. Ähnliche Eigenschaften wie dem Tuberin, mögen nach den Angaben von Vines und Green (**3**) dem Reserveproteid der Wurzel von Asparagus officinalis zukommen, welches gleichfalls in Wasser unlöslich und in Neutralsalzlösungen löslich ist; sonst wurden in der Spargelwurzel nur nichteiweißartige Stickstoffverbindungen vorgefunden. Bemerkenswert ist die Darstellung eines mucinartigen Eiweißkörpers aus Dioscoreaknollen durch Ishii (**4**). Der Schleim der Yamswurzeln von Dioscorea japonica Humb. und D. Batatas Dec. ist aus seinen Lösungen durch Essigsäure fällbar. Ishii benutzte zur Isolierung des Dioscoreamucins die Methode von Obolensky (**5**). Dieses Phytomucin ist wenig löslich in 2% KHO, starken Mineralsäuren oder konzentrierter Essigsäure. Pepsin greift es nicht an, wohl aber leicht alkalische Trypsinlösung. Es zeigt die Xanthoprotein-, Biuret- und Millonsche Reaktion und ist durch Tannin fällbar. Einige Zeit mit H_2SO_4 gekocht, liefert es kupferreduzierende Substanz und Pepton. Oshima und Tadoroko (**6**) isolierten Glucosamin aus seinen Spaltungsprodukten. Die Zusammensetzung wurde gefunden wie folgt:

Dioscoreamucin	52,82 % C	7,53 % H	14,20 % N	25,05 % S u. O
Gallenmucin nach Landwehr .	53,09 % C	7,60 % H	13,80 % N	25,04 % S u. O

Dazu kommt noch 0,41% Asche. Dieses in den Dioscoreaknollen zu etwa 8% der Trockensubstanz vorkommende Mucin ist hinsichtlich seiner Bedeutung als Reservestoff noch weiterer Untersuchung bedürftig.

Die in der Literatur vorhandenen analytischen Daten über Quantität der Reserveproteide in Wurzeln, Rhizomen, Knollen und Zwiebeln, welche man u. a. in der 1. Auflage dieses Buches, Bd. II, p. 190ff., und in Wehmers „Pflanzenstoffe“ einsehen kann, lassen an Brauchbarkeit viel

---

1) Ritthausen, Pflüg. Arch., *21*, 81 (1880); Ph. Zöller, Ber. chem. Ges., *13*, 1064 (1880). — **2**) Th. Osborne u. Campbell, Journ. Amer. Chem. Soc., *18*, 575 (1896). Tho. B. Osborne, Ergebn. d. Physiol., *10*, 211 (1910). Abderhaldens biochem. Handlex., *9*, 4 (1915). — **3**) S. H. Vines u. J. R. Green, Proc. Roy. Soc. Lond., *52*, 130 (1893). — **4**) J. Ishii, Landw. Vers.stat., *45*, 434 (1894); Beiheft. bot. Zentr., *6*, 20 (1896); Bull. Coll. Agr. Tokyo, *2*, 97 (1894). — **5**) Obolensky, Hoppe-Seylers Med.chem. Unt. (1871), p. 590. — **6**) K. Oshima u. T. Tadoroko, Journ. Coll. Agr. Sapporo, *4*, 243 (1911).

zu wünschen übrig, da selten angegeben wird, ob die Organe während der Ruhezeit oder während der Vegetationszeit untersucht worden sind.

Als perennierende Speicherorgane bieten die Rhizome, Knollen und Zwiebeln naturgemäß ganz andere biologische Verhältnisse als die Samen, und wir finden nur während der Vollruhe der Vegetation die Proteide in maximaler Anhäufung und die Aminoverbindungen im Minimum. Während der Vegetationszeit stellt die jeweils nachweisbare Menge der Reserveproteide analog der Rhizomstärke den Überschuß der Produktion über den Verbrauch dar, welcher mannigfachen regelmäßigen und unregelmäßigen Schwankungen unterliegt. Über die begleitenden Aminosäuren vergleiche man den nächsten Paragraph. Es hat übrigens HOLDEFLEISS (1) für die Kartoffelknollen gezeigt, wie bedeutende Schwankungen, unabhängig vom Knollengewicht und Stärkegehalt vorkommen können (6,18—11,52 % der Trockensubstanz). Im Mittel enthält die Kartoffelknolle 2,34% der frischen und 8,83% der Trockensubstanz an Eiweiß. Auch für die Zuckerrübe wird angegeben (2), daß die Abänderung im Stickstoffgehalt noch viel beträchtlicher ist als die Variation im Zucker gehalt. Nach ANDRLIK (3) beträgt die Eiweißbildung der Zuckerrübe pro Hektar in trockenen Jahren 4,2—7 dz, und erhöht sich bei reichlicher Düngung auf 9 dz.

In einzelnen Fällen gibt der Reserveproteingehalt unterirdischer Speicherorgane den Samen wenig nach und steigt bis zu 25% der Trockensubstanz. Bei genauen Feststellungen hätte man zu beachten, daß selbst im Maximum der Speicherung zur Ruhezeit bei verschieden alten Organen die Beladung mit Reservestoffen eine verschieden große ist, und deshalb Organe von bekanntem gleichen Alter zur Analyse zu verwenden sein werden. Während der Dauer der Ruheperiode fand APPLEMAN (4) bei Kartoffelknollen keine wesentliche Änderung in der Quantität der einzelnen N-Formen. Der Proteingehalt bleibt konstant bis zur Keimung.

§ 2.

Die Resorption von Reserveproteiden in unterirdischen Speicherorganen.

Wenn es auch den Anschein besitzt, als ob die Prozesse bei der Mobilisierung der Reserveproteide aus Knollen, Zwiebeln und Rhizomen wesentlich der gleichen Art wären, wie die Vorgänge beim Eiweißumsatz in keimenden Samen, so ist doch einige Vorsicht in der Parallelisierung geboten, da die vorhandenen Untersuchungen bisher sehr wenig erschöpfende Aufklärung gebracht haben. Es fehlt noch gänzlich an systematischen analytischen Arbeiten, welche uns den Gang der Eiweißresorption in den unterirdischen Speicherorganen vorführen würden. Selbst über Vorkommen und Tätigkeit proteolytischer Enzyme ist sehr wenig bekannt. Nach IWANOW (5) wirkt der Saft aus Zwiebeln, wie Pilzsaft auf Glycyl-l-Tyrosin deutlich spaltend ein. TADOROKO (6) erhielt durch

---

1) HOLDEFLEISS, Biedermanns Zentr. (1880), p. 120. — 2) K. ANDRLIK u. J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *36*, 513 (1912). STROHMER, FALLADA u. RADLBERGER, Öst.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *43*, Heft 2 (1914). — 3) K. ANDRLIK, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *32*, 255 (1908). — 4) CH. O. APPLEMAN, Bot. Gaz., *61*, 265 (1916). — 5) S. IWANOW, Beiheft. bot. Zentr., *29*, I, 144 (1912). — 6) T. TADOROKO, Journ. Coll. Agr. Sapporo, *5*, 57 (1913).

den Saft aus Zwiebel und Zingiberrhizom schwache Proteolyse; die Peptasereaktion war bei Zingiber schwach und fehlte bei Zwiebel und Rettich. ZALESKI (**1**) überließ in 4 Stücke zerteilte Zwiebeln von Allium Cepa 13tägiger Autolyse, die einen in gekochtem, die andern in ungekochtem Zustande und fand den Eiweiß-N bei den gekochten mit 1,3023 %, bei den anderen mit 1,1224 %.

Im wesentlichen beschränkt sich das vorliegende Tatsachenmaterial auf die Konstatierung des Vorkommens der verschiedenen Eiweißspaltungs- und Eiweißumsatzprodukte, wobei sich ziemliche Übereinstimmung mit den entsprechenden Stoffen in Samenkeimlingen ergeben hat. Von besonderer Bedeutung ist die Gelegenheit, große Massen von Pflanzenmaterialien wie sie die Industrie, z. B. in der Zuckerfabrikation, reichlich liefert, einer näheren Untersuchung zu unterwerfen, wobei man in der Lage ist, intermediäre Stoffwechselprodukte, die in ganz geringer Menge vorkommen, sicherzustellen. Im ganzen scheint unsere derzeitige Kenntnis von Vorkommen und Fehlen der einzelnen Eiweißumsatzprodukte noch mancher Ergänzungen zu bedürfen. Die gesamte Stoffbewegung beim Austreiben der Zwiebel von Allium Cepa findet sich bei ANDRÉ (**2**) behandelt.

Tyrosin ist oft gefunden worden. So in Kartoffeln (**3**), reichlich in den Knollen von Dahlia variabilis (**4**), in der Zuckerrübe (**5**), in der Wurzel von Apium graveolens (**6**). Daß, wie LIPPMANN angibt, in Zuckerrübenschößlingen auch d-Tyrosin vorkommt, wird von PRINGSHEIM (**7**) in Zweifel gezogen. Vielleicht handelt es sich um Racemisierungsprodukte. Tyrosin fand PLANTA (**8**) endlich auch in den Knollen der Stachys tuberifera. GONNERMANN (**9**) vermutete, daß die Dunkelfärbung des Rübensaftes auf einer Umwandlung des Tyrosins in die sehr leicht oxydable Homogentisinsäure beruht. Doch scheint es nach den Untersuchungen von SCHULZE und von GRAFE (**10**), daß andere oxydable Produkte hierbei im Spiele sind, und auch der Zusammenhang derselben mit Tyrosin bedarf noch weiterer Untersuchung. Beim Schwarzwerden (black heart) der Kartoffel spielt nach BARTHOLOMEW (**11**) das Tyrosin und die Tyrosinase eine wichtige Rolle. Homogentisinsäure ließ sich nicht nachweisen. Diese Erkrankung läßt sich durch höhere Temperaturen künstlich erzeugen. Kleine Tyrosinmengen dürften bei unterirdischen Speicherorganen verbreitet auftreten. Hingegen hat man Phenylalanin bisher noch nicht nachweisen können.

Leucin findet sich verbreitet, jedoch nie in bedeutender Menge. Nachgewiesen wurde es in der Kartoffel (**12**), in der Zuckerrübe (**13**), doch

---

1) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *25*, 367 (1907). — **2**) G. ANDRÉ, Compt. rend., *150*, 713 (1910). Bull. Soc. Chim. (4), *7—8*, 927 (1910). — **3**) E. SCHULZE u. BARBIERI, Landw. Vers.stat., *24*, 67 (1879). Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884); Ber. chem. Ges., *12*, 1924 (1879). SCHULZE u. ENGSTER, Landw. Vers.stat., *27*, 357 (1881). — **4**) H. LEITGEB, Mitteil. bot. Inst. Graz (1888), p. 215. — **5**) E. v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *17*, 283 (1884); kein Tyrosin fand K. SMOLENSKI, Zentr. Ver. dtsch. Zuck.ind. (1910), p. 1215. — **6**) M. BAMBERGER u. A. LANDSIEDL, Monatsh. Chem., *25*, 1030 (1904). — **7**) H. PRINGSHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *65*, 89 (1910). — **8**) A. v. PLANTA, Ber. chem. Ges., *23*, 1699 (1890). — **9**) GONNERMANN, Pflüg. Arch., *82*, 289 (1900). Chem.-Ztg., *40*, 127 (1916); Dtsch. Zuck.Ind., *40*, 751. Der Farbstoff der Melasse eine Säure $C_{34}H_{10}N_2O_{15}$: STOLTZENBERG, Ber. chem. Ges., *49*, 2021, 2675, (1916). — **10**) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 508 (1907). v. GRAFE, Öst.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind. (1908), Heft 1. — **11**) BARTHOLOMEW, Zentr. Bakt., II, *43*, 609 (1915). — **12**) SCHULZE u. BARBIERI, Landw. Vers.stat., *24*, 167 (1880). Ber. chem. Ges., *12*, 1924 (1879); SCHULZE, Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). — **13**) E. v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *17*, 2835 (1884). Darstellung aus Melasse: F. EHRLICH, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *7*, 94 (1913).

soll es bei Scorzonera hispanica nach Gorup Besanez (1) fehlen. Das d-Isoleucin wies Ehrlich (2) zuerst in der Melassenschlampe der Rübenzuckerfabrikation nach und konnte es durch die Leichtlöslichkeit seiner Kupferverbindung in Methylalkohol vom gewöhnlichen Leucin abtrennen. Dieser Stoff, seiner Konstitution nach die α-Amino-β-Methyläthylpropionsäure, wird sich gewiß noch in vielen anderen Fällen in kleiner Menge nachweisen lassen.

Das Asparagin spielt im Eiweißstoffwechsel unterirdischer Reservestoffbehälter eine ebenso hervorragende Rolle wie bei der Keimung der Samen. In den Schößlingen von Asparagus wurde die Substanz bekanntlich überhaupt zum ersten Male gefunden: Robiquet, 1805 (3); späterhin legte Plisson (4) die Identität des „Althaeins“ aus Althaeasprossen mit Asparagin dar. Reichlich nachweisen läßt es sich u. a. in der Kartoffelknolle (5); die Triebe derselben enthalten nach Seliwanoff (6) im etiolierten Zustande etwa 3% ihrer Trockensubstanz an Asparagin. Kinoshita (7) fand in der Wurzel von Nelumbo nucifera 2% Asparagin. Zuckerrübe lieferte 2—3% Asparagin (8). In Dahliaknollen wies Leitgeb Asparagin nach. Robiniawurzeln, Stolonen von Glycyrrhiza und viele andere Speicherorgane erwiesen sich gleichfalls reich an Asparagin (9). Viele Daten finden sich von Stieger (10) zusammengestellt, der auch darauf aufmerksam macht, wie das Asparagin bei manchen systematischen Gruppen (Gräser, Liliaceen, Rosaceen, Leguminosen und Compositen), sowohl in den unterirdischen Teilen, wie in den Keimlingen überwiegend als lösliches Amid vorkommt, während in anderen Gruppen ebenso das Glutamin überwiegt. Glutamin wurde nach der Zusammenstellung von Stieger vorwiegend angetroffen bei den Polypodiaceen, Polygonaceen, Cruciferen und Caryophyllaceen, während ungefähr gleich viel Asparagin und Glutamin sich bei den Umbelliferen vorfand, wahrscheinlich auch bei den Labiaten und Solanaceen. In der Zuckerrübe wird bei der in Deutschland gezogenen Pflanze Glutamin gefunden (11), während nach Smolenski in der russischen Zuckerrübe Asparagin vorwiegt, und Glutamin zweifelhaft ist. Stieger macht noch auf eine Reihe anderer derartiger unaufgeklärter Fälle aufmerksam, in denen Asparagin und Glutamin einander vertreten. Erwähnt sei noch das Glutamin aus den Knollen der Stachys tuberifera (12), sowie die durch Schulze (13) bei Cruciferen (Rhaphanus

---

1) Gorup Besanez, Ber. chem. Ges., *7*, 569 (1874). — 2) F. Ehrlich, Ebenda, *37*, 1819 (1904); *40*, 2538 (1907); Abderhaldens Handb. l. c. L. Bouveault u. Locquin, Compt. rend., *141*, 115 (1905). — 3) Robiquet jun., Ann. de Chim., *55*, 152 (1805). Vauquelin u. Robiquet, Ebenda, *57*, 88 (1806); Delaville, Ebenda, *41*, 298 (1802). — 4) A. Plisson, Ann. Chim. et Phys. (2), *36*, 175 (1827). Bacon, Ebenda, *34*, 201 (1827). Wittstock, Pogg. Ann., *20*, 346 (1830). — 5) E. Schulze, Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884); Schulze u. Barbieri, Landw. Vers.stat., *21*, 63 (1878); Schulze u. Engster, Ebenda, *28*, 357 (1882). — 6) Th. Seliwanow, Ebenda, *34*, 414 (1887). Beiheft. bot. Zentr., *2*, 107 (1892). — 7) Y. Kinoshita, Chem. Zentr. (1896), I, 45. — 8) Dubrunfaut, Champion u. Pellet, Ber. chem. Ges., *9*, 724 (1876). Schulze u. Urich, Landw. Vers.stat., *18*, 296 (1875); *20*, 193 (1877). Scheibler, Ber. chem. Ges., *2*, 296 (1896); K. Smolenski, Zentr. Ver. dtsch. Zuck.Ind. (1910), p. 1215. — 9) Vgl. Husemann-Hilger, Pflanzenstoffe, 2. Aufl., p. 264. — 10) A. Stieger, Ztsch. physiol. Chem., *86*, 245 (1913). — 11) Schulze, Ber. chem. Ges., *10*, 85, 109 (1877); *18*, 390 (1885). Schulze u. Urich, Landw. Vers.stat., *20*, 193 (1877). Schulze, Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). Schulze u. Bosshard, Ber. chem. Ges., *16*, 312 (1883). Landw. Vers.stat. (1883), p. 298; *32*, 129 (1885). Darstellung: Eug. Sellier, Chem. Zentr. (1904), I, 789. K. Andrlik, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *27*, 665 (1904). F. Ehrlich, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *7*, 94 (1913). Andrlik, Ztsch. Zuck.Ind., Böhm., *39*, 387 (1915). — 12) A. v. Planta, Ber. chem. Ges., *23*, 1699 (1890). — 13) Schulze, Ebenda, *29*, 1882 (1896). Landw. Vers.stat., *47*, 33 (1896).

und Brassica) und Umbelliferen (Daucus und Apium) angegebene Reihe von Vorkommnissen. Mit dem Glutamin scheint die von LIPPMANN (1) in der Rübenmelasse aufgefundene α-Oxyglutarsäure $COOH \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH$ genetisch als Produkt fermentativer Desamidierung zusammenzuhängen. In der Melasse kommt außerdem nach LIPPMANN (2) die Glutiminsäure vor, welche direkt aus dem Glutamin durch Ammoniakabspaltung entstehen kann:

$$COOH \cdot CHNH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CONH_2 = NH_3 + \overline{COOH \cdot CH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CONH}$$

Natürlich kommt für diese Stoffe auch eine artificielle Entstehung im Zuckerfabrikationsprozeß in Betracht. Ein weiterer interessanter Befund von LIPPMANN (3) ist die Konstatierung der Citrazinsäure oder αα'-Dioxy-γ-Pyridincarbonsäure im Rübensafte, für welche Beziehungen zur Eiweißspaltung vorderhand nicht gegeben erscheinen.

Von den Diaminosäuren ist Arginin in unterirdischen Speicherorganen verbreitet nachgewiesen. SCHULZE (4) fand es in Steckrübe, Topinambur, Ptelea trifoliata und Cichorienwurzel. 4000 g Steckrübe lieferten 0,9 g Arginin. Das vielleicht als Spaltungsprodukt des Arginins aufzufassende Guanidin fand LIPPMANN (5) neben Arginin im Rübensafte. Aus Kartoffelknollen isolierte SCHULZE (6) kleine Mengen von Arginin, Lysin und Histidin. Wenig Arginin wurde auch aus Dahlia-Knollen erhalten. Nach STIEGER begleitet Arginin meist das Asparagin, seltener das Glutamin. In den unterirdischen Teilen von Paeonia officinalis und Anemone nemorosa wurde nur Arginin gefunden, wogegen bei Ranunculus acer in den oberirdischen Teilen Asparagin neben Arginin nachgewiesen werden konnte. Das von SCHULZE neben den Hexonbasen in Kartoffeln gefundene Trigonellin dürfte in einen anderen Kreis von Stoffwechselvorgängen hineingehören.

PELLET (7) wies in den Diffusionssäften der Zuckerrübe größere Mengen von Ammoniummagnesiumphosphat nach. Das NH_3 kann wohl aus Desamidierungsprozessen der Eiweißspaltungsprodukte stammen. Zweifelhaft sind Befunde über Proteosen und Peptone in Kartoffel und Zuckerrübe (8), die durch neuere Methoden nicht bestätigt worden sind. Immerhin ist das native Vorkommen kleiner Mengen von Proteosen nicht unwahrscheinlich. Von den Produkten des Nucleinstoffwechsels hat man Hypoxanthin aus Kartoffelsaft in einer Menge von 3—4 mg auf 100 ccm Saft durch SCHULZE und BARBIERI (9) kennen gelernt. Im Zuckerrübensafte lassen sich nach den Angaben von LIPPMANN (10) Xanthin, Hypoxanthin, Guanin, Adenin, aber auch das im Pflanzenreiche bisher sonst nicht gefundene Carnin $C_7H_8N_4O + H_2O$, das aus dem Fleischextrakt bekannt ist, ferner Allantoin, Vernin und Vicin nachweisen. Über die Bestimmung der Nucleinbasen im Safte der Zuckerrübe sind die Angaben von BRESLER (11) zu ver-

1) E. v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *15*, 1156 (1882). — 2) v. LIPPMANN, Ebenda, *17*, Ref. 171 (1884). VL. STANĚK, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *39*, 191 (1915). — 3) v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *26*, 3061 (1893). — 4) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 43 (1895). Landw. Vers.stat., *59*, 331 (1904). — 5) v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *29*, 2645 (1896). — 6) E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *60*, 331 (1904). — 7) PELLET, Biedermanns Zentr. (1880), p. 673. Compt. rend., *90*, 876 u. 927 (1880). — 8) Vgl. SCHULZE u. ENGSTER, l. c. A. RÜMPLER, Chem. Zentr. (1898), I, 1212. — 9) SCHULZE u. BARBIERI, Landw. Vers.stat., *28*, 111 (1882); Ber. chem. Ges., *15*, 2383 (1882); Landw. Jahrb., *12*, 909 (1884). — 10) LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *29*, 2645 (1896). — 11) H. W. BRESLER, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 535 (1904).

gleichen, wo auch über Vorkommen von Heteroxanthin im Rübensafte berichtet wird. Hinsichtlich der Isolierung des Adenins sei auf die Mitteilung von STOLTZENBERG (1) verwiesen. Das Vernin aus Melasse haben SCHULZE und TRIER (2) in einer eigenen Untersuchung als mit dem Guanin-d-Ribosid oder Guanosin identisch erkannt. Das in der Rübe von SMOLENSKI konstatierte Allantoin ist sodann noch von TITHERLEY und COPPIN (3) im Wurzelstock des Symphytum officinale entdeckt worden, wo es 0,6—0,8 % des lufttrockenen Materiales bildet. In anderen Symphytum-Arten fand es VOGL (4) nicht. Am meisten Allantoin wurde im Hochsommer angetroffen, am wenigsten im Frühjahr. STIEGER fand die Substanz noch in einigen anderen Boragaceen auf: Anchusa, Borago, sowie in den oberirdischen Teilen der Labiate Stachys silvatica und in den Wurzeln der Mirabilis Jalapa. Auch in den Wurzeln von Phaseolus multiflorus ist Allantoin nachgewiesen (5).

Über die Verhältnisse des Eiweißphosphors in Knollen hat UMIKOFF (6) Mitteilungen gemacht. Von dem Gesamt-P der Kartoffelknolle entfallen nach diesem Autor in Prozenten auf den Eiweiß-P 60%, auf inorganische Phosphate 34%, auf Lecithin-P 6%, ähnlich wie bei Samen.

§ 3.
Die Eiweißbildung in unterirdischen Speicherorganen.

Während des Vegetationsganges perennierender Speicherorgane schreiten wohl stets Eiweißbildung und Eiweißspaltung ebenso nebeneinander her, wie Bildung und Lösung von Stärke. Anwachsen des Eiweißgehaltes ist nur der Ausdruck des Überwiegens der Eiweißbildung bzw. Eiweißregeneration über den Eiweißverbrauch, ein Verhältnis, welches beim Heranwachsen jugendlicher Knollen und Rhizome maximale Werte erreicht. Einige Daten über die Zunahme des Eiweißgehaltes während der Ausbildung der Kartoffelknollen hat HUNGERBÜHLER (7) geliefert, aus denen auch zugleich hervorgeht, wie der Gehalt an nichteiweißartigen N-Verbindungen, wohl der Hauptsache nach Aminosäuren, gleichzeitig ansteigt.

Die Knollen enthielten am:	23. Juni	30. Juni	7. Juli	
an Trockensubstanz	17,03	20,30	19,15	in Prozenten der Frischsubstanz
hiervon in Proz. Gesamt-N	1,27	1,50	1,44	
Eiweiß-N	0,901	0,966	0,845	
Nichtprotein-N	0,369	0,534	0,595	
vom Gesamt-N betrug in Proz.				
der Eiweiß-N	70,9	64,4	58,7	
Nichteiweiß-N	29,1	35,6	41,3	
Zucker vor Inversion	6,4	0,33	0,62	
nach Inversion	—	4,50	4,69	
Stärke	56,70	61,30	66,30	

Über die Eiweißregeneration in den Trieben auskeimender Speicherorgane wurde in den Arbeiten von ZALESKI, PRIANISCHNIKOW und IWANOW berichtet (8).

1) H. STOLTZENBERG, Ztsch. Ver. dtsch. Zuck.Ind., *62*, 318 (1912). — 2) E. SCHULZE u. G. TRIER, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 145 (1911). Vgl. auch K. SMOLENSKI, Zentr. Ver. dtsch. Zuck.Ind. (1910), p. 1215; F. EHRLICH, Abderhaldens Handb., *7*, 94 (1913). — 3) A. W. TITHERLEY u. N. G. COPPIN, Pharm. Journ. (4), *34*, 92 (1911). — 4) A. VOGL, Pharm. Post, *51*, 181 (1918). — 5) FR. B. POWER u. SALWAY, Pharm. Journ. (4), *36*, 550 (1913). — 6) UMIKOFF, zit. bei ZALESKI, Ber. bot. Ges., *20*, 427 (1902). — 7) F. HUNGERBÜHLER, Landw. Vers.stat., *32*, 381 (1885). — 8) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *16*, 146 (1898); *19*, 331 (1901). Bot. Zentr., *87*, 277 (1901); PRIANISCHNIKOW, Ber. bot. Ges., *17*, 151 (1899); L. IWANOW, Landw. Vers.stat., *55*, 78 (1901).

In seiner ersten Mitteilung illustrierte ZALESKI die Eiweißregeneration beim Austreiben der Zwiebeln von Allium Cepa im Dunklen durch die nachstehenden Zahlen. Hier ist die Eiweißzersetzung bei der Keimung nicht so intensiv, als daß sie leicht untersucht werden könnte, jedoch die Regeneration sehr lebhaft. 10 Zwiebeln hatten ein Frischgewicht von 43,5 g. Die angewendeten Zwiebeln hatten

	ungekeimt	nach 28tägiger	nach 31tägiger Keimung
an Trockengewicht . . .	5,82460	5,06450	4,77610
Gesamtstickstoff	0,16136	0,16019	0,15950
Eiweißstickstoff	0,05166	0,08104	0,08377
Phosphorwolframfäll.-N .	0,02525	0,02094	0,02442
Asparaginstickstoff . . .	0,01006	0,01552	0,01628
vom Gesamt-N waren Eiweiß-N in Proz.	32,0	50,5	52,5

In zwei anderen Versuchen war der Eiweißgehalt von 40,9% auf 59,8% und von 49,6% auf 60,9% vermehrt worden. In den Experimenten von PRIANISCHNIKOW war der Gehalt an Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N während des Austreibens von Allium Cepa binnen 42 Tagen von 33,3% auf 65,4% gestiegen. ZALESKI hat auch darauf aufmerksam gemacht, daß während der Winterruhe des nicht treibenden Organs der Eiweißgehalt allmählich heranwächst, so daß vom Gesamt-N der Küchenzwiebel im September bis Januar 32—33% Eiweiß-N sind, während von März bis Mai über 50% an Eiweiß-N gefunden werden. Damit wird die oben geäußerte Anschauung, daß in den perennierenden Speicherorganen Anwachsen des Eiweißgehaltes nur ein Überwiegen nicht verbrauchter Materialien bedeutet, und der jeweilige Eiweißgehalt die Resultante zwischen Bildung und Verbrauch darstellt, durch ein weiteres Beispiel erläutert.

Durch Zerschneiden der Organe und Herbeiführung eines Wundreizes läßt sich nach ZALESKI der Eiweißregenerationsprozeß bedeutend beschleunigen, so daß die in Stücke zerteilten Knollen und Wurzeln um 10% und mehr an Eiweiß-N enthalten (**1**). Sauerstoffzutritt ist nach ZALESKI unbedingt nötig, damit Eiweißregeneration eintritt, wobei es sich aber wohl nur um indirekte Einflüsse handeln kann. Der Gehalt an Asparagin verändert sich während der Eiweißregeneration nicht wesentlich, so daß es unwahrscheinlich wird, daß dieser Stoff das direkte Material zur Eiweißsynthese darstellt. IWANOW fand an einigen Untersuchungsobjekten gleichfalls ausgeprägte Zunahme der Eiweißstoffe beim Austreiben im Dunklen, während in anderen Speicherorganen augenscheinlich wegen des Überwiegens des Eiweißzerfalles in den untersuchten Keimungsstadien ein Plus an Eiweiß-N im Resultate nicht zum Ausdruck kam. Aus Parallelbestimmungen des N und P im Verlaufe des Austreibens von Zwiebeln wollten IWANOW und KOWSCHOFF (**2**) den Schluß ableiten, daß dabei auch die Nucleoproteide eine starke quantitative Vermehrung erfahren. Daß aber die Methoden nicht ausreichen, um die von diesen Autoren abgeleiteten Folgerungen zu ziehen, hat ZALESKI (**3**) gezeigt. Doch ist zuzugeben, daß eine Vermehrung der Nucleinsäuren mit der Eiweißvermehrung und dem Wachstum der Pflanze zweifellos anzunehmen sein wird.

Von mehreren Seiten ist auch für die unterirdischen Speicherorgane die Anschauung, daß die Aminosäuren eine Vorstufe der Eiweißregeneration

---

1) Dasselbe fand HETTLINGER, Rev. gén. Botan., *13*, 248 (1901). — **2**) J. KOVSCHOFF, Ber. bot. Ges., *21*, 165 (1903); Rev. gén. Bot., *14*, 449 (1902). — **3**) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *25*, 360 (1907).

darstellen, gestützt worden (1). ZALESKI und SHATKIN (2) zeigten, daß der Eiweißaufbau in den Zwiebeln von Allium Cepa nur auf Kosten der Aminosäuren vor sich geht und der Amid-N dabei unverändert bleibt.

Zweiundvierzigstes Kapitel: Der Eiweißstoffwechsel in Knospen und Laubtrieben.

§ 1.

Reserveproteide.

Bei dem gänzlichen Mangel an eingehenden systematischen Untersuchungen auf diesem Gebiete läßt sich nichts allgemein gültiges berichten.

Gelegentliche Beobachtungen (3) lassen mich schließen, daß in Zweigen und Ästen während der Winterruhe mitunter erhebliche Mengen von Reserveeiweiß vorkommen. Die Leptomstrahlen sind bei Cornus sanguinea, Corylus Avellana, Ribes rubrum der hauptsächliche Sitz der Eiweißvorräte, während bei Alnus glutinosa, Populus tremula, Lycium barbarum, Humulus lupulus anscheinend die Parenchymlängszüge im Leptom als proteinführend hervortreten. Auch hier dienen Aleuronkörner der Eiweißspeicherung. Chemische Untersuchungen dieser Reserveproteide aus holzigen Zweigen fehlen noch ganz. Da man mitunter, z. B. bei Alnus, schön rote Biuretreaktion beobachtet, so darf man daran denken, daß auch hier phytoglobulinartige Proteine, bei denen dieses Verhalten öfter vorkommt, gespeichert werden.

Die Knospen enthalten, wie auch SUZUKI (4) fand, selbst meist weniger Reserveproteide als die Zweigrinde im Leptomteil. Quantitative Angaben sind in der Literatur nur sehr spärlich zu finden. Nach KELLNER (5) enthalten die Schößlinge japanischer Bambusen 12,21 % der Trockensubstanz an Reserveprotein, Sorghum saccharatum 12,34 %. Zuckerrohr enthält nach KÖNIG im Mittel 6,08 % „Rohprotein" in der Trockensubstanz. Im Marke der Palme Medemia nobilis fand GALLERAND (6) 10,5 % Eiweiß. Für die Rinde von Sarcocephalus esculentus gaben HECKEL und SCHLAGDENHAUFFEN (7) 10,05 % Rohprotein an. Die Rinde der Rhamnacee Colubrina reclinata enthielt in Analysen von ELBOME (8) bei 6,3 % Wassergehalt 6 % Eiweiß, und frische Stammrinde von Johannesia princeps (Euphorbiaceae) nach PECKOLT (9) bei 40 % Wassergehalt 0,25 % Eiweiß, während die Wurzelrinde bei 56,25 % Wassergehalt 0,37 % Eiweiß aufwies. Bei Milchsaft führenden Pflanzen wird man zu berücksichtigen haben, daß auch der Latex proteinhaltig ist (10).

---

1) Vgl. J. A. LE CLERC, Landw.-Vers.stat., *59*, 27 (1903). — 2) W. ZALESKI u. W. SHATKIN, Biochem. Ztsch., *55*, 72 (1913). — 3) F. CZAPEK, Sitz.ber. Wien. Akad. Math.nat. Kl., *106*, März 1897, p. 137. Über Eiweißkrystalle in verdunkelten Kartoffelpflanzen vgl. HUBERT, Österr. bot. Ztsch., *64*, 273 (1914). — 4) U. SUZUKI, Bull. Coll. Agric. Tokyo, *3*, 253 (1897). — 5) O. KELLNER, Jahresber. Agric. Chem. (1886), p. 357. — 6) R. GALLERAND, Compt. rend., *138*, 1120 (1904). — 7) HECKEL u. SCHLAGDENHAUFFEN, Justs Jahresber. (1885), I, 88. — 8) ELBOME, Ebenda, p. 77. — 9) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *15*, 183 (1905). — 10) Protein in Kautschuk: D. SPENCE, Journ. Inst. Comm. Research in the Tropics 1907, Journ. Repr., Nr. 13. Das krystall. Protein a. d. Milchsaft von Antiaris toxicaria: OSBORNE, Abderhaldens biochem. Handlex., *9*, 11 (1915).

Analytische Untersuchungen über die Reserveproteide in der Zweigrinde unserer einheimischen Holzgewächse fehlen noch ganz und wären sehr erwünscht. Der Stickstoffgehalt älterer Baumrinden beträgt nach COUNCLER (1) im Maximum für Quercus palustris 1,024 %, im Minimum bei Alnus 1,07 %. Über den Stickstoffgehalt des Holzes und der Streumaterialien des Waldes hat SCHRÖDER (2) Angaben gemacht, welche jedoch in Hinblick auf ganz verschiedene praktische Gesichtspunkte eruiert worden sind.

§ 2.

Resorption der Reserveproteide aus Baumzweigen.

Beim Austreiben der Knospen pflegt der Eiweißvorrat im Leptom der Zweigrinden sehr stark vermindert zu werden. Für Rhus elegans fand DESBARRES (3) bei der Untersuchung im Winter und Frühjahr

im Winter	72,16 %	Trockensubstanz und	9,42 %	Eiweiß
im Frühling	66,70 %	„ „	2,25 %	„

Für Acer platanoides gab SCHRÖDER (4) von der Zeit des Beginnes der Knospenentfaltung am 5. April bis zur völligen Blattentwicklung am 18. Mai eine Verminderung des N-Gehaltes der Zweige um 26 % der ursprünglichen Menge an. PÄSSLER (5) fand während der Triebentwicklung der Rotbuche eine Eiweißabnahme von 30—50 %. Für den Kirschbaum in Japan fand AOYAMA (6) gegenüber dem Proteingehalte der Rinde im Winter eine Abnahme von 37,16 % im Frühling.

Über die Fermente des Eiweißstoffwechsels in Sprossen ist noch sehr wenig bekannt. Die ausführlichsten Angaben sind jene von KATO (7) über die in Bambooschößlingen vorkommenden Enzyme. Es ließ sich hier nachweisen: ein fibrinlösendes Enzym; eine Nuclease, die thymusnucleinsaures Natron und mykonucleinsaures Natron unter Bildung von Phosphorsäure und Purinbasen spaltet, ferner Urease und eine Desamidase, welche Asparagin angriff, jedoch nicht Glykokoll. Erwähnt sei dann die Auffindung von Labferment im Leptom der Zweige von Evonymus durch COL und GERBER (8), ein sehr basiphiles Enzym mit dem Temperaturoptimum bei 90°. Die im Milchsaft vorhandenen Enzyme sollen an anderer Stelle zusammenfassend behandelt werden. Dazu gehört auch das Papayaferment, das nach VINES (9) wahrscheinlich aus einem Pepton bildenden und einem ereptischen Enzym formiert sein dürfte.

Besonders durch die Arbeiten von BORODIN (10) ist es bekannt geworden, daß mit der Eiweißmobilisierung in den Zweigen ein sehr reich-

---

1) C. COUNCLER, Ztsch. Forst- u. Jagdwes. (1883), p. 100. — 2) J. SCHRÖDER, Allg. Forst- u. Jagdzeit. (1877), p. 221. — 3) DESBARRES, Biedermanns Zentr. (1879), p. 946. — 4) J. SCHRÖDER, Justs bot. Jahresber. (1878), I, 568. — 5) J. PÄSSLER, Tharander forstl. Jahrb., *43*, 63 (1893). — 6) G. AOYAMA, Bot. Zentr., *71*, 368 (1897). Blatt- u. „Fruchtknospen“ von Prunus: MANARESI u. TONEGUTTI, Staz. sper. agr. ital., *47*, 158 (1914). Entwicklung der Knospen der Roßkastanie: G. ANDRÉ, Compt. rend., *158*, 1517 (1914). Analysen von Palmensaft: BROWNING u. SYMONS, Journ. Soc. Chem. Ind., *35*, 1138 (1916). BACHILLI, Ann. di chim. appl., *3*, 101 (1015). — 7) K. KATO, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 456 (1911). Peptolytisches Enzym in Medicago: JACOBSON u. HOLMES, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 2170 (1914). In Nicotiana: TRAETTA MOSCA, Gazz. chim. ital., *43*, II, 445 (1913). Bei blühreifen Pflanzen ist nach FISHER, Biochem. Journ., *13*, 124 (1919) die proteolytische Wirksamkeit am stärksten. — 8) COL u. GERBER, Soc. Biol., *67*, 869 (1909). — 9) S. H. VINES, Ann. of Botan., *23*, 1 (1909). — 10) J. BORODIN, Botan. Ztg. (1878), p. 801.

liches Auftreten von Aminosäuren verbunden ist. Von diesen Aminosäuren kennt man jedoch noch nicht viele. Asparagin wurde in Knospen und Zweigen allgemein verbreitet vorgefunden (1). Im Hopfen wies es BUNGENER (2) nach. BORODIN zeigte auch bereits, daß das Asparagin in verdunkelten austreibenden Baumzweigen sich in ähnlicher Weise anhäuft, wie in etiolierten Keimpflanzen. MONTEVERDE (3) ergänzte diese Erfahrungen durch den Nachweis, daß man durch Einstellen der Zweige in Lösungen von Traubenzucker, Mannit oder Rohrzucker diese Asparaginanhäufung verhindern kann. Glycerin war nach dieser Richtung unwirksam. Die Analogie mit Keimpflanzen ist demnach unbestritten vorhanden, und es läßt sich, wenn auch spezielle Untersuchungen für Zweige noch abzuwarten sind, voraussehen, daß auch hier die Asparaginbildung als sekundärer Prozeß anzusehen ist. BORODINS Meinung, daß das Asparagin sich einfach mit Kohlenhydraten vereinigend Eiweiß liefere, ist in dieser Form nicht aufrecht zu erhalten.

Glutamin wurde von SCHULZE (4) in zahlreichen austreibenden Sprossen gefunden, scheint jedoch für die eigentlichen Holzpflanzen noch nicht nachgewiesen zu sein. Leucin gab SCHULZE (5) für die Knospen der Roßkastanie an. SHIBATA (6) fand viel Tyrosin in den rasch wachsenden Schößlingen der japanischen Bambusen. Aus einer der letzteren, der Sasa paniculata, stellte MIYAKE (7) pro 30 kg Frischsubstanz von Schößlingen 1,5 g Tyrosin und 1,0 g Asparagin her. Erwähnt sei noch der Nachweis von SCHULZE und KISSER (8), daß bei der Asparaginbildung in Zweigen Eiweiß verbraucht wird, wodurch die Erfahrungen von BORODIN ergänzt werden.

Diaminosäuren sind bisher in Zweigen als Eiweißstoffwechselprodukte noch nicht nachgewiesen. Der von ORLOFF (9) in Fichtensprossen gefundene mit Phosphorwolframsäure fällbare Stoff soll mit Arginin nicht identisch sein, und wäre noch näher zu untersuchen.

WINTERSTEIN und HUBER (10) bemühten sich, den die Methylmercaptanausscheidung durch den Harn nach Spargelgenuß verursachenden Stoff der Spargelschößlinge zu eruieren. Sie halten die Substanz für ein schwefelreiches Pepton.

Ein merkwürdiger Befund in der Rinde verschiedener Leguminosen ist ein Methyltyrosin, welches nach den Sicherstellungen von GOLDSCHMIEDT (11) an der Substanz aus Krameria triandra, wo sie als Ratanhin bezeichnet wurde (12), mit β-p-Oxvphenyl-α-methylaminopropionsäure identisch ist: $(4)(OH) \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \; C(CH_3NH_2) \cdot COOH$. Das Surinamin oder Geoffroyin (13) und das Andirin (14) aus der Rinde von Andira-Arten

---

1) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Bot., *8*; SCHULZE u. BARBIERI, Journ. prakt. Chem., *25*, 145 (1882); SCHULZE u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *11*, 420 (1886). BORODIN, l. c. — 2) H. BUNGENER, Justs Jahresber. (1885), I, 70. — 3) N. MONTEVERDE, Arb. Petersb. Nat.forsch. Ver. (1889), p. 28, 43. Botan. Zentr. (1891), Nr. 12. — 4) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *20*, 327 (1894). Ber. chem. Ges., *29*, 1882 (1896). — 5) E. SCHULZE, l. c. — 6) SHIBATA, Journ. Coll. Sci. Tokyo, *13*, 329 (1900). — 7) K. MIYAKE, Journ. Coll. Agr. Un. Sapporo (1911), IV, 261. — 8) E. SCHULZE u. KISSER, Landw. Jahrb., *17*, 701; SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 18 (1897). — 9) N. A. ORLOFF, Botan. Zentr., *75*, 77 (1898). — 10) E. WINTERSTEIN u. P. HUBER, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, *7*, 721 (1904). Vgl. jedoch WINTERSTEIN, Ebenda, *9*, 411 (1905). — 11) G. GOLDSCHMIEDT, Monatsh. Chem., *34*, 659 (1913); *33*, 1379 (1912). — 12) RUGE. Jahresber. Chem. (1862), p. 493. — 13) HÜTTENSCHMIDT, Geig. Mag. Pharm., *7*, 287 (1824). H. BLAU, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 153 (1918). WINTERSTEIN, Ebenda, *105*, 20 (1919). — 14) O. HILLER-BOMBIEN, Arch. Pharm., *230*, 513 (1893). WINCKLER, Pharm. Zentr. (1840), p. 120. Chem. Zentr. (1869), p. 394; (1870), p. 281.

(Voucapoua Aubl.), ferner das Angelin (1) aus dem Splintholze der Ferreirea spectabilis Allem. sind damit identisch. Methyltyrosin gibt die Reaktionen von PIRIA und MILLON wie Tyrosin. Die physiologische Rolle der Substanz ist nicht bekannt.

In verschiedenen Loranthaceen: Phoradendron flavescens, Viscum album u. a. wurde p-Oxyphenyläthylamin nachgewiesen (2), das offenbar in den Tyrosinstoffwechsel hineingehört.

Inwieweit das reichliche Vorkommen von Cyanwasserstoff in manchen Holzpflanzen, wie der javanischen Flacourtiacee Pangium edule, aber auch vieler krautiger Pflanzen, wie Phaseolus lunatus und anderer, worauf noch weiter unten einzugehen sein wird, mit dem Eiweißstoffwechsel in Verbindung zu bringen ist, bleibt noch aufzuklären. Die Triebspitzen des Pangium enthalten nach TREUB (3) viel CNH und wenig Eiweiß. Auch stellte sich ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen der CNH-Menge und der Darreichung von Kohlenhydraten und Nitrat heraus. Ob nun, wie TREUB annimmt, die CNH immer eine Vorstufe der Eiweißbildung ist, oder ob CNH auch im Eiweißzerfall auftreten kann, muß noch entschieden werden, was angesichts der geringen Beziehungen dieser Erscheinung zu den sonst bekannten Tatsachen des Eiweißstoffwechsels keine leichte Aufgabe darstellt.

Hinsichtlich des Nucleinstoffwechsels ist zu erwähnen, daß kleine Mengen von Xanthin, Hypoxanthin und Guanin durch SCHULZE und BOSSHARD in Rinden und Laubsprossen nachgewiesen worden sind. SHOREY (4) fand Guanin im Zuckerrohrsafte auf. Aus 30 kg frischer Bambooschößlinge von Sasa paniculata isolierte MIYAKE (5) 0,095 g Xanthin, 0,06 g Hypoxanthin, 0,09 g Adenin und 0,031 g Guanin. Auch TOTANI (6) gewann Adenin, Cholin und Betain aus Bambooschößlingen. In den Schößlingen der Aralia cordata fand MIYAKE Guanin und Xanthin, nicht aber Adenin und Hypoxanthin (7).

Allantoin ist wiederholt in Zweigrinden und Knospen konstatiert worden. SCHULZE und BARBIERI (8) erhielten aus jungen Platanentrieben 0,5—1,0% an Allantoin. Analytisch verhält sich Allantoin dem Asparagin ähnlich, und wurde mit demselben aus dem Wasserextrakte erhalten nach Fällung mit Bleiacetat und Einengen des vom Blei befreiten Filtrates. Zur Trennung vom Asparagin wurde die Fällung des letzteren als schwerlösliche Kupferverbindung benutzt. Auch die Zweige verschiedener Acer-Arten und die Rinde von Aesculus Hippocastanum lieferten Allantoin. Später hat THOMS (9) erkannt, daß der in Rinde und Blättern von Cordia excelsa vorkommende, von PECKOLT als „Cordianin" bezeichnete Stoff ebenfalls mit Allantoin identisch ist. Die Blätter der Cordia excelsa lieferten 0,266%, die Rinde 0,788% Allantoin. Auch Cordia atrofusca Taub. erwies sich als Allantoin führende Pflanze. So schließen sich die Cordiaceen den krautigen Formen der Boragaceen in bezug auf den Allantoingehalt an.

---

1) TH. PECKOLT, Ztsch. österr. Apoth.Ver. (1868), p.. 518. W. GINTL, Wien. Akad., *58*, 443. — 2) CRAWFORD u. WATANABE, Journ. Biol. Chem., *19*, 303 (1914); *24*, 169 (1916). OSTENBERG, Proc. Soc. Exp. Biol., *12*, 174 (1915). — 3) M. TREUB, Ann. Jard. Bot. Buitenzorg, *13*, 1 (1895); *19*, 86 (1904). — 4) E. C. SHOREY, Journ. Amer. Chem. Soc., *21*, 609 (1899). — 5) K. MIYAKE, Journ. Coll. Agr. Univ. Sapporo, IV, 261 (1911). — 6) G. TOTANI, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 113 (1909); *70*, 388 (1910). — 7) MIYAKE, Journ. Biol. Chem., *21*, 507 (1915). — 8) SCHULZE u. BARBIERI, Ber. chem. Ges., *14*, 1602 (1881); Journ. prakt. Chem., *25*, 145 (1882); Ztsch. physiol. Chem., *11*, 420 (1886). Landw. Jahrb., *21*, 105 (1892). SCHULZE u. BOSSHARD, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 420 (1886). — 9) H. THOMS, Verh. Ges. Naturf. Hamburg (1901), II, (2), 629. Ber. pharm. Ges., *12*, 140 (1902).

Dreiundvierzigstes Kapitel: Der Eiweißstoffwechsel der Pollenzellen.

Die vorhandenen Kenntnisse beschränken sich auf einige analytische Ergebnisse hinsichtlich Eiweißgehalt, Aminostoffe und Nucleinbasen.

Der reichliche Proteingehalt reifer Pollenkörner war schon älteren Beobachtern, wie FOURCROY und VAUQUELIN (1) am Pollen von Phoenix dactylifera, LINK, JOHN und BRACONNOT (2) aufgefallen. In neuerer Zeit wurde der Proteingehalt von Pollen wiederholt bestimmt; der Literatur seien die nachstehenden Daten entnommen:

Pinus silvestris	16,56 %	Eiweiß	nach PLANTA (3),
Pinus silvestris	15,87 %	,,	nach KRESLING (4),
Corylus Avellana	30,06 %	,,	nach PLANTA l. c.
Beta vulgaris.	16,90 %	,,	nach A. STIFT (5),
Ambrosia artemisiifolia .	24,40 %	,,	nach HEYL (6).

Vom Kiefernpollen wurde ein phytoglobulinartiger Eiweißstoff angegeben, außerdem Pepton (7). Der Gehalt an wasserlöslichem, durch Tannin fällbarem Eiweiß betrug 1,61 %. Nach Behandlung mit verdünnter HCl und NaOH ergab sich eine weitere Tanninfällung von 1,595 %. Nach STIFT entfallen auf die 3,6 % Gesamt-N der Trockensubstanz des Zuckerrübenpollens 2,6 % auf Eiweiß-N, 0,12 % auf Ammoniak-N, 0,4 % auf Monamino-N. Asparagin und Glutamin wurden vergeblich gesucht (8). Vom Eiweiß des Ambrosia-Pollens war 7,5 % mit verdünntem Alkali extrahierbar, und 5 % mit 10 %iger Salzlösung. Die Hydrolyse ergab (auf Pollen berechnet) 2,13 % Arginin, 2,41 % Histidin, 0,57 % Cystin und 0,97 % Lysin. Auffällig ist der hohe Gehalt an Histidin. Das Hauptproteid ist ein Glutelin, welches von 1,1 % eines Albumins und bis 3 % Proteosen begleitet wird.

In allen Fällen ließen sich Nucleinbasen nachweisen. PLANTA erhielt aus Coryluspollen 0,15 %, aus Pinuspollen 0,04 % Hypoxanthin und Guanin. KRESLING fand im Kiefernpollen 0,015 % Xanthin, 0,021 % Guanin und 0,085 % Hypoxanthin. Die genannten Untersucher erhielten ferner eine kleine Menge von Guanosin (Vernin) aus Corylus und Pinuspollen. Wahrscheinlich ist auch Adenin nach den Befunden von SCHULZE und PLANTA anzunehmen, da vielleicht während der Präparation durch Enzymwirkung Hypoxanthin und Xanthin aus den präexistenten Guanin und Adenin hervorgehen.

Über die Resorption der Reserveproteide bei Austreiben der Pollenschläuche ist keine Untersuchung vorhanden.

1) FOURCROY u. VAUQUELIN, Gilb. Ann., *15*, 298 (1803). — 2) LINK vgl. DAVY, Elem. d. Agric. Chem. (1814), p. 163. JOHN, Schweigg. Journ., *12*, 244 (1814). H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *42*, 91 (1829). — 3) A. v. PLANTA, Landw. Vers.stat., *32*, 215 (1885). — 4) K. KRESLING, Arch. Pharm., *229*, 389 (1891). — 5) A. STIFT, Botan. Zentr., *88*, 105 (1901). — 6) FR. W. HEYL, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1470 (1917); *41*, 670 (1919). KOESSLER, Journ. biol. Chem., *35*, 415 (1918). — 7) A. v. PLANTA, Landw. Vers.stat., *31*, 97 (1884). — 8) E. SCHULZE u. PLANTA, Ztsch. physiol. Chem., *10*, 326 (1886).

Vierundvierzigstes Kapitel: **Der Eiweißstoffwechsel von Früchten.**

In Ermangelung systematischer Arbeiten auf diesem Gebiete haben wir uns darauf zu beschränken, die wenigen analytischen Daten, die in der Literatur vorhanden sind, geordnet anzuführen. Rohprotein in Prozenten der Trockensubstanz wurde gefunden bei:

Apfel	2,32 %	Erdbeere	4,63 %
Birne	1,94 %	Heidelbeere	3,60 %
Zwetsche	4,06 %	Feige	5,75 %
Pfirsich	2,89 %	Solanum melongena	19,83 %
Aprikose	2,84 %	Mespilus germanica	2,62 %
Kirsche	3,45 %	Capsicum annuum	12,29 %
Weintraube	2,97 %		

	Wassergehalt	Eiweiß
Berberis	74,67 %	0,51 %
Musa sapientum	14,90 %	12,90 %
Phoenix dactylifera	16,68 %	2,46 %
Japanische Orangen (1)	12,16 %	5,27 %

Maclura pomifera, Trockensubstanz	17,56 %	Eiweiß
Anona cherimolia, Trockensubstanz	10,55 %	„
Smilax rotundifolia, Trockensubstanz	1,12 %	„
Arbutus Unedo (68,64 % Wassergehalt)	0,14 %	N
Asparagus officinalis	1,56 %	„
Arctostaphylos uva ursi	0,64 %	„
Cucumis sativus, Trockensubstanz (2)	18,12 %	Eiweiß

Von Bananenmehl gibt SCHELLMANN (3) folgende Zahlen:

Muster aus Afrika 19,64 % Wasser und 3,69 bzw. 4,41 % Protein
Muster aus Indien 12,63 % Wasser und 4,25 bzw. 4,79 % Protein.

Im Citronensafte wies FUNK (4) auch Purinbasen und Pyrimidinbasen sowie Cholin nach.

Die in Früchten vorkommenden proteolytischen Enzyme stehen wahrscheinlich im Dienste der Eiweißumsetzung. In reifenden Bananen ist nach TALLARICO (5) Protease nachzuweisen, die bei der Reife verschwindet. Die Protease aus Weintrauben hat sich nicht bestätigt (6). Andere Enzyme aus Früchten, wie das Papain und die Labfermente sind schon erwähnt worden. Chymosin enthält auch die Frucht von Solanum elaeagnifolium (7). Über die Aminosäuren in unreifen Früchten bestehen nur vereinzelte Angaben. So fand HUBER (8) in unreifen Birnen 0,45—0,1% an Asparagin, und in

1) R. BAHADUR, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 121 (1906). — 2) MC HARGUE, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 612 (1915). CUTOLO, Staz. sper. agr. ital., *48*, 889 (1915). POGERS, Chem. News, *114*, 172 (1916). MOHORČIČ, Arch. Hyg., *86*, 248 (1917). HEHNER, Chem. News, *116*, 296 (1917). SHIPPEE, Ebenda, *117*. 254 (1918). RUBNER, Arch. An. Physiol. 1916, p. 151. — 3) W. SCHELLMANN, Der Pflanzer, *2*, 353 (1906). — 4) C. FUNK, Biochem. Journ., *7*, 81 (1913). — 5) G. TALLARICO, Arch. Farm. Sper., *7*, 27 (1908). — 6) PANTANELLI, Zentr. Bakt., II, *42*, 480 (1914). MARRAS, Ebenda, *43*, 641 (1915). — 7) BODANKY, Journ. Biol. Chem., *27*, 103 (1916). — 8) P. HUBER, Schweiz. Woch.schr. Chem. u. Pharm., *47*, 401 (1909).

jüngeren Stadien noch mehr davon, während im Safte reifer Früchte Asparagin nicht mehr nachzuweisen war. Im Safte reifender Früchte von Citrus aurantium kommt nach SCURTI und DE PLATO sowohl Asparagin als Glutamin vor (**1**).

Hinsichtlich der Fruchtreifung bieten die Untersuchungen von SCHELLENBERG (**2**) an Phaseolus Interesse. Die innere Partie der Hülse speichert stark im Zellsaft gelöste Amide, worunter Asparagin und Allantoin nachgewiesen wurden, in der äußeren Schicht der Hülse wird besonders Stärke gefunden.

Die Fruchtreife der Tomate hat SETTIMJ (**3**) verfolgt. Der Gesamt-N vermindert sich allmählich bei der Reifung, die Menge des unlöslichen N noch weit erheblicher.

Einer Untersuchung bedarf auch noch die Beziehung der Blüten- und Fruchtbildung zur Stickstoffversorgung. O. LOEW (**4**) gab an, daß zu reichliche Stickstoffzufuhr die Blütenbildung verzögere. Asparagin soll weniger verzögern als Ammoniumsalze. Plötzliche Stickstoffentziehung soll zu Blütenbildung und Fructification anregen.

Fünfundvierzigstes Kapitel: **Der Eiweißstoffwechsel der Laubblätter.**

§ 1.

Die Proteinsubstanzen der Laubblätter. Resorptionsvorgänge.

Das Studium der Eiweißstoffe in den Laubblättern in Angriff zu nehmen, ist gewiß eine der dringendsten Aufgaben in der chemischen Physiologie. Eine Mitteilung von WINTERSTEIN (**5**) läßt entnehmen, daß man aus Laubblättern, ähnlich wie bei höheren Pilzen, nicht direkt durch Extraktion zu solchen Mengen von Eiweißpräparaten gelangt, wie man sie nach dem hohen Stickstoffgehalt der Laubblätter erwarten dürfte. Aus diesen Angaben läßt sich noch kein Schluß bezüglich der Natur der vorhandenen Proteinstoffe ableiten; erinnert sei nur an die Rolle von Lipoiden, die gegen enzymatische Einwirkungen, wie BIEDERMANN (**6**) zeigte, Schutz gewähren, und ebenso bei Extraktionsversuchen wirken können.

A. MEYER (**7**) hat die Eiweißstoffe der Chloroplasten eingehender mikrochemischer Untersuchung unterzogen und gezeigt, wie weitgehend dieselben den Lösungs- und Speicherungsvorgängen unterliegen. Er hält die Proteine der Laubblätter wesentlich für Reserve-Eiweiß.

Aleuronkörner sind in Blattzellen nicht nachgewiesen. Die von POLITIS (**8**) in Blattzellen von Coelogyne und Eria beobachteten Zell-

---

1) F. SCURTI u. G. DE PLATO, Ann. R. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), II (1908), p. 225. — **2**) SCHELLENBERG, Ber. Schweiz. Bot. Ges., *24/25*, p. XXV (1916). — **3**) SETTIMJ, Arch. farm. sper., *24*, 345 (1917). — **4**) O. LOEW, Flora, *95*, 124 (1905). — **5**) WINTERSTEIN, Ber. bot. Ges., *19*, 326 (1901). — **6**) W. BIEDERMANN, Flora, *111/112*, 560 (1918). — **7**) A. MEYER, Ebenda, *111*, 85 (1918); Ber. bot. Ges., *33*, 373 (1915); *35*, 658 (1917); *36*, 508 (1918). — **8**) J. POLITIS, Atti Acc. Linc. Roma (5), *20*, 343 (1911).

contenta, die Eiweiß- aber auch Tanninreaktionen geben, sind in ihrer Natur wie ältere ähnliche Befunde durchaus unklar, jedoch keinesfalls den Aleuronkörnern zu vergleichen. Dafür, daß Nucleine bei den Blättern eine besonders wichtige Rolle spielen, sprechen nicht einmal die gewöhnlichen analytischen Befunde (**1**).

Zweifellos zeigen die vorhandenen Analysen, daß die Laubblätter in der Regel einen sehr hohen Stickstoffgehalt aufweisen. Daß die Blätter besonders an Eiweißstoffen relativ sehr reich sind, folgt aus den Befunden von Uno (**2**), welcher aus verschiedenen Blättern das in Wasser lösliche und das beim Erhitzen koagulierbare Albumin bestimmte. Wenn man jedoch, wie es in den vorhandenen Analysen geschehen ist, aus dem N-Gehalt das Rohprotein durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25 berechnet, so dürfte die Berechtigung hierzu nicht in allen Fällen die gleiche sein. Trennt man bei ausgewachsenen Blättern Mesophyll und Blattnervensubstanz zur Analyse, so ergeben sich Werte von über 30% für den Gehalt der Blattrockensubstanz an Eiweiß. Dahlen (**3**) fand für Spinacia 33,06, für Petroselinum sativum 24,46, Lactuca sativa Mesophyll 31,75% und Cichorium Endivia 38,77% Eiweiß. Dort, wo relativ viel Zellhautgerüst oder mineralische Einlagerungen vorhanden sind, wird der Eiweißgehalt natürlich entsprechend herabgedrückt erscheinen. Da die meisten Analysen überdies nicht das Lebensalter der Blätter berücksichtigen, so hat es wenig Wert hier eingehend die vorhandenen Analysen zu reproduzieren, die man überdies in der 1. Auflage des Buches, Bd. II, p. 202 zusammengestellt findet. Analysen vieler Zierpflanzen haben in neuerer Zeit Hébert und Truffaut veröffentlicht (**4**).

Molisch (**5**) zeigte, daß man bei entfärbten Blättern sehr gut die Xanthoprotein- oder die Biuretprobe zum Vergleich des Eiweißgehaltes heranziehen kann.Die Reaktion kann nur durch Gegenwart phenolartiger Verbindungen in Blättern maskiert werden (**6**). Prüfung von panaschierten Blättern zeigt, daß die albicaten Teile sehr schwach reagieren (**7**). Es hat sich der prozentische und totale N-Gehalt auch bei grünen Blättern im Vergleich zu variegaten Formen höher ergeben (**8**).

Schon die Blattentwicklung bedarf eines sehr hohen Aufwandes an Stickstoffverbindungen, so daß nach Ramann und Bauer (**9**) beim Austreiben der Knospen nicht selten über die Hälfte des Stickstoffvorrates in den jungen Trieben hinaufgeleitet wird, und eine Zeit hindurch Erschöpfung an N-Verbindungen in den Zweigen herrscht. Wie zu erwarten, läßt sich aus jungen Blättern, wie André (**10**) bei Castanea erfuhr, ein sehr erheblicher Teil der Stickstoffverbindungen mit Wasser auslaugen. Derselbe Forscher (**11**) führte an Blättern von Papaver und Pyrethrum aus, wie Wasser und Gesamt-N im Safte sich während des Vegetationsprozesses vermindern. Auch die älteren Arbeiten von Kellner (**12**) über die stofflichen Veränderungen bei Teeblättern während der Lebensdauer eines Blattes zeigten, wie infolge des stetig wachsenden Gehaltes der Trockensubstanz an Rohfaser und Fett eine prozentuale Verarmung an

---

1) Vgl. z. B. G. André, Compt. rend., *142*, 226 (1906). — **2**) H. Uno, Bull. Coll. Agric. Tokyo, *4*, 391 (1902). — **3**) Dahlen, Landw. Jahrb. (1874), p. 321. — **4**) A. Hébert u. Geo. Truffaut, Bull. Soc. Chim. (4), *7*, 31 (1910). — **5**) Molisch, Ztsch. f. Bot., *8*, 124 (1916). — **6**) Gertz, Bot. Notis. 1917, p. 1. — **7**) G. Lakon, Biochem. Ztsch., *78*, 145 (1916). — **8**) M. Molliard, Bull. Soc. Bot., *59*, 341 (1913). — **9**) E. Ramann u. H. Bauer, Jahrb. wiss. Bot., *50*, 67 (1911). — **10**) G. André, Compt. rend., *155*, 1528 (1912); *158*, 1812 (1914). — **11**) G. André, Ebenda, *142*, 106 (1906). — **12**) O. Kellner, Landw. Vers.stat., *33*, 370 (1887).

Eiweiß bis auf die Hälfte eintritt. Doch erwiesen sich die ausdauernden Theablätter gegen das Ende der Vegetationszeit noch immer viel proteinreicher als die Blätter unserer Laubbäume. Ähnliches berichtet ANDRÉ für die Blätter von Castanea vesca (1). Natürlich sind in bestimmten Fällen Verluste durch flüchtige Stickstoffverbindungen nicht ausgeschlossen (2). Dies betrifft besonders Cyanwasserstoff.

Die Bestimmung des Stickstoffes in abgeworfenen Blättern ergab nicht immer niedere Zahlen, so daß man Zweifel hegt, ob man von einer „herbstlichen Entleerung und Stoffrückwanderung in Blättern" sprechen darf. MÖLLER (3) kam zur Ansicht, daß vor dem Laubfalle kein Rückströmen N-haltiger Stoffe in den Stamm stattfindet. EMEIS und LOGES (4) haben an frisch abgefallenem Laub eine Reihe von N-Bestimmungen angestellt und fanden in Prozenten der Trockensubstanz an „Rohprotein":

Salix alba . . .	16,74 %	Carpinus Betulus .	7,57 %
Populus canescens	11,52 %	Quercus Robur . .	7,07 %
„ argentea .	12,51 %	Fagus silvatica . .	6,57 %
Betula alba . .	5,05 %	Acer Pseudoplatanus	6,39 %
Alnus glutinosa .	18,71 %		

Auch STONE und FULLENWIDDER (5) kamen bezüglich Acer zu ähnlichen Resultaten. B. SCHULZE (6) berichtete bezüglich Acer Negundo, daß im Mai der Rohproteingehalt des Laubes sich auf 27—28 %, später auf 25—23 % belaufe, und beim Blattfall 13 % der Trockensubstanz betrage. Der Eiweiß-N bleibt fast konstant bis August und sinkt dann um die Hälfte. Der Gehalt an Nuclein beträgt im Mai 13 %, im September 30 % des Eiweiß-N. Die Aminosäuren betragen im Mai 0,8 bis 0,9, im September 0,6 %. Amid-N wird nur in den jüngsten Blättern in sehr geringer Menge mit 0,04 % gefunden, der Ammoniak-N beträgt gleichmäßig 0,06 bis 0,08 %. Auch dieser Forscher behandelt die herbstliche Entleerung der N-Substanzen mit Skepsis. OTTO und KOOPER (7) fanden den N-Gehalt der Blätter in den frühen Entwicklungsstadien am größten, und von da bis zum Absterben eine kontinuierliche Abnahme. COMBES (8) kommt bezüglich des Schicksales der N-Substanzen im Laubfalle zu keiner definitiven Ansicht. FRUHWIRT und ZIELSTORFF (9) sind für Humulus lupulus zur Annahme geneigt, daß tatsächlich eine herbstliche Rückwanderung von N-Verbindungen stattfinde. Auch SWART (10) konstatierte, daß während der Verfärbung der Blätter, kurze Zeit vor dem Abfall, der Verlust an N und P recht bedeutend sein kann. Dies legen die Beobachtungen von MEYER (11) an vergilbenden Chloroplasten nahe, die zweifellos eine beträchtliche Einbuße an Protein erleiden. So bedarf dieses Problem einer umfassenden kritischen Bearbeitung. Die Möglichkeit eines ausgiebigen Rückströmens von N-Sub-

---

1) G. ANDRÉ, Compt. rend., *148*, 1685 (1909). — 2) Vgl. E. COUPEROT, Journ. Pharm. et Chim. (6), *29*, 100 (1909). — 3) A. MÖLLER, Ztsch. Forst- u. Jagdwes., *44*, 527 (1912). — 4) EMEIS u. LOGES, Justs Jahresber. (1884), I, 173. — 5) W. E. STONE u. J. S. FULLENWIDDER, Chem. Zentr. (1893), II, 650. — 6) B. SCHULZE, Verh. Nat. Ges. (1904), II, *1*, 175. — 7) R. OTTO u. W. D. KOOPER, Landw. Jahrb., *39*, 167 (1909). — 8) R. COMBES, Rev. gén., Bot., *23*, 129 (1911). — 9) C. FRUHWIRTH u. W. ZIELSTORFF, Landw. Vers.stat., *55*. 9 (1901). — 10) N. SWART, Die Stoffwanderung in ableb. Blättern. Jena 1914. — 11) A. MEYER, Flora, *111*, 85 (1918).

stanzen unter bestimmten Bedingungen und Voraussetzungen liegt vor, da der jeweils vorhandene Proteingehalt der Blätter bestimmt ist durch den Überschuß des im Laubblatte gebildeten Eiweißes über das verbrauchte Protein, und die Eiweißbildung in herbstlichen Blättern wohl eine allmähliche starke Verminderung infolge des Rückganges der Assimilationstätigkeit erfahren wird (1).

Im Anschluß daran führe ich RÖRDAMS Analysen von Zostera im Sommer und Winter an (2)

	Sommer	Winter
Zostera marina	1,53 % Gesamt-N	2,57 % Gesamt-N
	1,16 % Eiweiß-N	1,52 % Eiweiß-N
	0,37 % Amid-N	1,05 % Amid-N
	6,96 % Protein	9,12 % Protein
	1,85 % Amide	5,25 % Amide
Z. angustifolia	1,52 % Gesamt-N	2,23 % Gesamt-N
	1,22 % Eiweiß-N	1,53 % Eiweiß-N
	0,30 % Amid-N	0,70 % Amid-N
	7,32 % Protein	9,18 % Protein
	1,50 % Amide	3,50 % Amide

Die Winterexemplare waren somit an Protein- und Amid-N reicher als Sommerpflanzen.

Die Aminosäuren in Laubblättern sind erst in neuerer Zeit einigermaßen beachtet worden. In analytischen Bestimmungen des Aminosäure-N mittels Formoltitration nach SÖRENSEN fand BAILLY (3) folgende Werte für Monamino-N in Proz. der Trockensubstanz:

Blätter der weißen Rübe . .	0,507
junge Tabakblätter	0,42
Blüten von Nicotiana	0,272
Kohlblätter	0,886
Medicago sativa	0,35
Blätter von Daucus Carota . .	0,28
„ „ Betula alba . .	0,144
„ „ Taraxacum offic. .	0,3

Das Verhältnis von Protein-N zu Nichtprotein-N geht auch aus den Daten hervor, die PIGORINI (4) für Morusblätter gab:

Morgens:	Gesamt-N	in Trockensubst.	2,445 %	in Frischsubst.	0,772 %
	Protein-N	„ „	2,309 %	„ „	0,729 %
	Nichtprotein-N	„ „	0,1105 %	„ „	0,043 %
Abends:	Gesamt-N	„ „	2,534 %	„ „	0,883 %
	Protein-N	„ „	2,368 %	„ „	0,824 %
	Nichtprotein-N	„ „	0,166 %	„ „	0,059 %

1) Vgl. auch P. SEREX jun., Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1286 (1917). — 2) K. RORDAM, Jahresber. landw. Hochsch. Kopenhagen 1917, p. 107. — 3) O. BAILLY, Bull. Sci. Pharm., *18*, 702 (1912). Aminosäurenbestimmung nach VAN SLYKE, GRINDLEY, JOSEPH u. SLATER, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1778 (1915); ebenda, p. 2762. Vgl. auch ebenda, *38*, 1425 (1916). — 4) L. PIGORINI, R. Staz. bacolog. sper. Padova 1914. Für Diaspiskranke Morusblätter N-Verringerung: Atti Real. Ist. Veneto di Sci., *73*, II, 1913/14.

In Blättern von Vitis vinifera wies DELEANO (1) Glutamin nach, während Asparagin vermißt wurde. Auch Arginin und Histidin konnten nicht sichergestellt werden, ebensowenig Purinbasen. Hingegen konnte MIMURUTO (2) in den Blättern von Morus alba Asparagin und Adenin nachweisen. In Caltha palustris ließ sich sehr wenig Arginin und Spuren von Histidin nachweisen (3). Großen Reichtum an Asparagin konstatierte MOLLIARD bei Blättergallen (4). Adenin wurde außer aus Morusblättern von YOSHIMURA noch aus Theablättern sowie Blättern und Blüten von Chrysanthemum und Artemisia isoliert (5). Sehr bemerkenswert sind die Angaben von FOSSE (6), wonach es möglich ist, bei Blättern der verschiedensten Pflanzen durch die Abscheidung mittels Xanthydrol geringe Mengen von Harnstoff als Dixanthylharnstoff nachzuweisen. Hierüber wären noch eingehende Untersuchungen am Platze. Aus Kohlköpfen gewann YOSHIMURA (7) pro 50 kg Frischsubstanz Histidin und Arginin zu 0,7 g, Lysin 0,2 g, Cholin zu 0,3 g. Dabei ist es ungewiß, welcher Anteil auf die Blattorgane entfiel.

Proteolytische Enzyme dürften auch in Blättern kaum je fehlen. O. LOEW (8) hat für Nicotiana zuerst ein solches Enzym nachgewiesen. DEAN (9) fand proteolytische Wirkungen bei Blättern von Spinacia, Brassica, Castanea und bei den Blütenköpfchen von Daucus. Verschiedene neuere Angaben lassen aber vermuten, daß besonders die peptonspaltenden Wirkungen nach Analogie des Erepsins, bei Blättern häufig sind. TADOROKO (10) konnte bei Blättern von Aralia cordata, Brassica und Lactuca keine Proteolyse, wohl aber überall Peptolyse finden, beim Kohl am stärksten. Auch BLOOD (11) berichtet über Ereptase aus Weißkohl, welche aufhört zu wirken, wenn die Lösung auf Methylorange sauer reagiert. Glycyl-l-Tyrosin wird nach ABDERHALDEN (12) durch Papayotin gespalten. Eine Nuclease ist aus Pteridium aquilinum gewonnen worden (13).

Hingewiesen sei auf die noch nicht näher analysierte Beobachtung von MIACHI (14), wonach die alten im Beginne des Absterbens stehenden Blätter von Paeonia albiflora merklich asparaginreicher werden als die frischen Blätter.

Die von SUZUKI (15) dargelegte Meinung, daß während der Nacht in den Blättern Eiweißsubstanzen unter Bildung von Aminosäuren gespalten werden, und die letzteren nach anderen Teilen der Pflanze transportiert werden, dürfte im wesentlichen der wirklichen Sachlage entsprechen, besonders mit der Modifikation, daß die Zerlegung und Bildung von Eiweiß als fortdauernde Prozesse in den Laubblättern zu gelten haben, und nachts durch ein Überwiegen des ersteren Vorganges der genannte Effekt

---

1) N. T. DELEANO, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 79 (1912). — 2) Z. MIMUROTO, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *5*, Nr. I, p. 63 (1912). — 3) POULSON, Arch. exp. Pathol. u. Pharm., *80*, 173 (1916). — 4) M. MOLLIARD, Compt. rend., *152*, 274 (1911). NIERENSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *93*, 53 (1914) hat aus Gallen ein krystallis. l-Galloyl-Leucin dargestellt. — 5) K. YOSHIMURA, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 334 (1913). — 6) R. FOSSE, Compt. rend., *155*, 851 (1912); *157*, 941 (1913). Bull. Sci. Pharm., *20*, 69 u. 513 (1913). — 7) K. YOSHIMURA, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, *19*, 253 (1910). — 8) O. LOEW, U. Stat. Dept. Agric. (1900), Rep. Nr. 65. J. DU P. OOSTHUIZEN u. O. M. SHEDD, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1289 (1913). — 9) A. L. DEAN, Bot. Gaz., *39*, 321 (1905). — 10) T. TADOROKO, Journ. Coll. Agr. Sapporo, *5*, 57 (1913). — 11) F. A. BLOOD, Journ. Biol. Chem., *8*, 215 (1910). — 12) E. ABDERHALDEN u. Y. TERUUCHI, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 24 (1906). — 13) TEODORESCO, Compt. rend., *155*, 554 (1912). — 14) T. MIACHI, Bull. Coll. Agric. Tokyo, Vol. II, 458 (1896). — 15) U. SUZUKI, Ebenda, III, 241 (1897). Vgl. auch A. MENOZZI, Justs Jahresber. (1888). I. 38.

zustandekommt. Dabei ist es natürlich nicht ausgeschlossen, daß es, wie OTTO und KOOPER (1) fanden, vorkommt, daß abgeschnittene Blätter sich am Abend nach ausgiebiger Belichtung prozentisch N-ärmer erweisen als am Morgen, da reichliche Ansammlung von Stärke solche Effekte erzeugen muß.

§ 2.

Die Bildung von Proteinstoffen in den Laubblättern.

SACHS (2) hat wohl zuerst (1862) darauf hingewiesen, daß bei den höheren Pflanzen die reichlichste Bildung von Eiweißstoffen in den assimilierenden Laubblättern stattfinden dürfte, und wir finden bei SACHS zugleich die Bemerkung, daß „es nicht unmöglich erscheine, daß auch außerhalb der chlorophyllhaltigen Zellen der Blätter Eiweißstoffe durch Kombination assimilierter stickstoffreier Substanzen mit Ammoniak oder Salpetersäureverbindungen entstehen könnten.“ Nur den Zellen der Vegetationspunkte und den Zellen des Cambiums wollte SACHS. die Fähigkeit der Eiweißsynthese absprechen. HANSTEIN sprach sich auf Grund seiner Ringelungsversuche dahin aus, daß „aus allem hervorgehe, daß auch die Proteinkörper erst durch die Tätigkeit des Laubes konstruiert werden können und von da aus verteilt werden, zugleich mit den Kohlenstoffverbindungen.“

Die hervorragende Bedeutung der Laubblätter für die Eiweißbildung in den grünen Gewächsen dürfte denn auch heute einem Zweifel kaum unterworfen sein, ebensowenig aber die Fähigkeit anderer Organe an der Eiweißsynthese in bestimmtem Grade zu partizipieren. In den Laubblättern bieten die reichliche Zufuhr von N-Verbindungen durch den Transpirationsstrom (Nitrate nnd Ammoniumsalze), sowie die reichlichste Versorgung der synthetisch wirksamen Zellen mit Zucker und Kohlenhydraten die besten Bedingungen für die Proteinsynthese. Doch ist speziell neueren theoretischen Äußerungen in der Literatur gegenüber nachdrücklich hervorzuheben, daß die Blattzellen keinerlei besondere Fähigkeit zur Eiweißsynthese gegenüber anderen Körperzellen, vielleicht auch sehr vielen tierischen Zellen, zu besitzen brauchen; jede Hypothese, welche einseitig eine Photosynthese für die Proteine in den Blättern in Anspruch nimmt, ignoriert die allgemeine Fähigkeit der Zellen zur Proteinsynthese in der gröblichsten Weise.

So wie bei der Ernährung eines Schimmelpilzes mit Zucker und Ammoniumsalz, so ist auch bei der Eiweißsynthese in den Blättern, wie KELLNER und EMMERLING zuerst ausgeführt haben, die Annahme sehr begründet, daß wir zwei Hauptstadien in diesem Prozesse zu unterscheiden haben: die Synthese von α-Aminosäuren mit ihrer wichtigen Gruppierung $COOH \cdot CHNH_2$ und die Kondensation der Aminosäurereste zum Eiweißmolekül. Man darf vielleicht sagen, daß die Begünstigung der Bildung von Aminosäuren in den Blättern durch die obwaltenden Bedingungen noch größere Bedeutung für die quantitative Prävalenz der Proteinsynthese in den Blättern besitzt, als die ergiebige Kondensation der Aminosäuren zu Eiweiß als direktes Agens. Als Stickstoffquellen kommen

---

1) R. OTTO u. W. D. KOOPER, Landw. Jahrb., *39*, 999 (1910). — 2) J. SACHS, Experimentalphysiologie (1865), p. 343. Flora (1862); Botan. Ztg. (1862), p. 63. — 3) Im Gegensatze zur Meinung von O. TREBOUX, Ber. bot. Ges., *22*, 572 (1904) ist diese Annahme selbst dann zulässig, wenn in einem Fall NH_4-Salze die beste N-Quelle sind.

für die Eiweißsynthese in Laubblättern im natürlichen Leben vor allem die aus dem Boden aufgenommenen Verbindungen in Betracht: Nitrate und Ammoniumsalze, welche in den Wasserbahnen zu den Blättern emporgeleitet werden und daselbst der Verarbeitung unterworfen sind. Einer Reihe von Erfahrungen (1) zufolge ist der Nitratgehalt der Blätter in der Tat kleiner als derjenige von Stengeln und Wurzeln, was als Stütze für die Ansicht dienen kann daß die Nitrate in den Blättern einem lebhaften Verbrauche unterliegen (2). Der Luftstickstoff ist, wie bereits ausgeführt, weder für die Laubblätter der Leguminosen noch für die Blätter anderer Phanerogamen eine direkte Quelle der N-Versorgung. Die Arbeiten von Frank (3), welche die direkte Aufnahme von Luft-N_2 für die Blätter aller Blütenpflanzen beweisen sollten, und selbst die N_2-Fixierung der Leguminosen als einen derartigen Vorgang betrachteten, sind in ihren Resultaten widerlegt (4).

Anders liegt die Sache bezüglich der in der Luft vorhandenen kleinen Mengen von Ammoniak, für welche die Möglichkeit einer Ausnutzung wohl besteht. Bekanntlich hat Liebig (5) zuerst die Behauptung vertreten, daß der Vegetation fortwährend kleine Ammoniakmengen durch die Niederschläge durch Blätter und Wurzeln zugeführt werden. Später haben experimentelle Studien von A. Mayer und L. Koch sowie von Nerger gezeigt (6), daß eine Aufnahme von Ammoniak aus der umgebenden Luft durch die Blätter tatsächlich möglich ist. Doch besteht kein Zweifel, daß diese Art der N-Versorgung lange nicht ausreichend ist, um in der Natur die Eiweißsynthese der Laubblätter zu unterhalten. Hier haben wir es vielmehr mit der aus dem Boden aufgenommenen Salpetersäure und mit den Ammoniumsalzen des Bodens zu tun.

Zaleski (7) hat über Versuche berichtet, in welchen abgeschnittene Blätter von Helianthus, im Dunklen auf Nitrat und Zucker enthaltender Nährlösung schwimmend, ihren Eiweißgehalt erheblich vermehrten. Von den Versuchen dieses Forschers führt die nachstehende Tabelle einige Zahlen an, welche sich auf Eiweißstickstoff in Milligrammen pro 1 qm gebildet beziehen.

Versuch Nr.	Dauer in Stunden	Mit Nitrat und Zucker			Ohne Nitrat mit Zucker			Mit Nitrat ohne Zucker		
		Kontroll- blatthälfte	Versuchs- blatthälfte	Differenz	Kontroll- blatthälfte	Versuchs- blatthälfte	Differenz	Kontroll- blatthälfte	Versuchs- blatthälfte	Differenz
I.	6	2621	2853	+ 232	2614	2610	— 4			
II.	19	3355	3582	+ 227	3354	3353	— 1			
III.	19	2610	2824	+ 214	2613	2620	+ 7			
IV.	18	2446	2640	+ 194	2451	2457	+ 6			
IX.	21							2887	2493	— 394
X.	21							2870	2767	— 103
XI.	21							2823	2578	— 245

1) Vgl. Hoffmann, Arch. Pharm., *122*, 193 (1865); Hosaeus, Jahresber. Agr. Chem. (1865), p. 87; Frühling, Landw. Vers.stat., *9*, 150 (1867); Sorokin, Justs Jahresber. (1875), p. 871; Emmerling, Landw. Vers.stat., *24*, 136 (1880). Monteverde, Justs Jahresber. (1883), I, 57. G. André, Compt. rend., *148*, 1685 (1909). — 2) Frank, Ber. bot. Ges., *5*, 472 (1887) hatte allerdings daraus den entgegengesetzten Schluß abgeleitet, daß die Nitrate gar nicht bis zu den Blättern gelangen, weil sie früher assimiliert werden; diese Deutung wird aber durch anderweitige Erfahrungen widerlegt. — 3) A. B. Frank u. R. Otto, Ber. bot. Ges., *8*, 331 (1890). — 4) R. Otto u. W. D. Kooper, Landw. Jahrb., *39*, 999 (1910). Für Sinapis vgl. Densch, Mitteil. Kais. Wilhelms-Inst. f. Landw. Bromberg, III, 387 (1911). — 5) J. Liebig, Die Chemie und ihre Anwendung auf Agrik. u. Physiol., 7. Aufl. (1862), I, 313, II, 300. — 6) A. Mayer u. L. Koch, Ber. chem. Ges. (1873), p. 1406. Mayer, Landw. Vers.stat., *17* (1874). C. Nerger. Dtsch. landw. Presse, *13*, 256 (1886). — 7) W. Zaleski, Ber. bot. Ges., *15*, 536 (1897). Bot. Zentr., *87*, 281 (1901).

Daß im Dunklen tatsächlich in den Blättern auf Kosten von Nitrat unter bestimmten Bedingungen Eiweiß gebildet werden kann, geht ferner aus Versuchen von SUZUKI (1) an etiolierten Gerstenkeimlingen hervor. SUZUKI brachte die etwa 15 cm hohen Pflanzen für 7 Tage in 0,2% $NaNO_3$, teilte sodann die Versuchspflanzen in zwei Partien, von welchen die eine sofort zur Analyse kam, die andere aber 7 Tage hindurch im Dunklen in 10% Rohrzucker gehalten wurde. Es enthielten von beiden Partien:

	Gesamt-N	Protein-N	Asparagin-N	Nitrat-N	Sonstiger N
100 Keimlinge am Anfange des Versuches in mg . .	57,6	25,2	17,2	4,4	10,8
100 Keimlinge am Ende des Versuches in mg . . .	58,2	30,5	16,6	0,0	11,2

Diese Proteinbildung kann aber nur bei reichlicher Zuckerzufuhr stattfinden, da SUZUKI bei Anwendung von 1% Saccharoselösung ein Plus an Eiweiß-N auf Kosten des Nitrat-N nicht festzustellen vermochte. Daß Eiweißbildung im Dunklen bei Darreichung von Nitrat und Zucker bei Blättern erfolgt, haben übrigens schon Arbeiten von BOUSSINGAULT (2), in neuerer Zeit von KINOSHITA, MAZÉ, MALINIAK gezeigt (3). Auch SAPOSCHNIKOWS Versuche (4) demonstrierten, daß abgeschnittene Blätter aus Nitrat Eiweiß zu bilden vermögen.

In Versuchen von GODLEWSKI (5) stellte sich gleichfalls die Möglichkeit heraus, daß Blätter im Dunkeln auf Kosten von Nitrat und Zucker Eiweiß formieren, doch war die Eiweißbildung im Lichte, selbst wenn man durch Ausschluß von Kohlensäure für eine Ausschaltung der assimilatorischen Zuckerbildung Sorge getragen hatte, mehr als dreimal so intensiv. Bei Keimpflanzen von Triticum fand WASNIEWSKI (6) denselben begünstigenden Einfluß des Lichtes auf die Bildung der Eiweißstoffe, um so deutlicher, je weiter die Keimlinge in ihrer Entwicklung waren. LAURENT, MARCHAL und CARPIAUX (7), die in einer früheren Arbeit angenommen hatten, daß eine Nitratverarbeitung im Dunkeln überhaupt kaum stattfinde, schlossen sich den wesentlichen Gesichtspunkten GODLEWSKIS an. Sie bestätigten auch SUZUKIS Ergebnisse, und legten dar, daß man die Lichtwirkung auf die Proteinsynthese hauptsächlich als eine Wirkung der ultravioletten Strahlen anzusehen habe, während die bei der Chlorophylltätigkeit wirksamen Strahlen für die Eiweißsynthese fast ohne Bedeutung seien. Aber wie schon E. SCHULZE und EMMERLING bemerkten (8), und auch ZALESKI (9) hervorgehoben hat, lassen sich die von GODLEWSKI und von LAURENT angegebenen Wirkungen des Lichtes auf die Eiweißvermehrung auch dahin deuten, daß bei den verdunkelten Pflanzen ein gesteigerter Eiweißzerfall eintritt, so daß Lichtpflanzen

---

1) SUZUKI, Bull. Coll. Agric. Tokyo, *2*, 409; *3*, 241 (1898); O. LOEW, Bot. Zentr., *75*, 289 (1898). — 2) BOUSSINGAULT, Agronomie usw., *7*, 130. — 3) KINOSHITA, Agric. Coll. Tokyo, *2*, Nr. 4. MAZÉ, Compt. rend., *128*, 185; *127*, 1031 (1899). M. MALINIAK, Rev. gén. Botan., *12*, 337 (1900). — 4) SAPOSCHNIKOW, Bot. Zentr., *63*, 246 (1895). — 5) E. GODLEWSKI, Anzeig. Akad. Krakau (1897). Bull. Ac. Sci. Cracovie (1903). — 6) S. WASNIEWSKI, Bull. Ac. Cracovic, 1914, p. 615 (Juniheft). — 7) LAURENT, MARCHAL u. CARPIAUX, Bull. Ac. Roy. Belg., *32* (1896); LAURENT u. MARCHAL, Rech. sur la synthèse des subst. album. par les végét. Bruxelles 1903. — 8) E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *24*, 93 (1897). EMMERLING, Landw. Vers.stat., *54*, 228 (1900). — 9) W. ZALESKI, Ber. bot. Ges., *27*, 56 (1909). Zur Frage der Lichtwirkung ferner L. MONTEMARTINI, Atti Istit. Botan. Univ. Pavia (2), *10* (1905). Für einen Einfluß der stark brechbaren Strahlen auf die Proteinbildung tritt dagegen J. DUMONT ein: Compt. rend., *141*, 690 (1905).

schließlich mehr Eiweiß bei gleich intensiver Eiweißsynthese aufweisen, als verdunkelte Exemplare. GODLEWSKI hat dagegen die Erfahrung von BALICKA IWANOWSKA (1) geltend gemacht, daß die Abnahme an Eiweiß-N und die Zunahme an Nichtprotein-N bei belichteten in CO_2-freier Atmosphäre gehaltenen und bei verdunkelten Lupinen unter Ausschluß einer Stickstoffquelle ganz gleich verlief. Ob aber nicht bei Versorgung mit Nitrat der Eiweißzerfall im Dunkeln gesteigert wird, ist in diesen Versuchen nicht geprüft worden.

Aus früherer Zeit liegt eine ganze Reihe von Erfahrungen vor, welche den Verbrauch von Nitraten zur Eiweißbildung in Blättern wahrscheinlich machen. SOROKIN (2) beobachtete, daß die Blätter nitratärmer seien als die anderen Teile der Pflanzen. PAGNOUL (3) war wohl der erste, welcher direkt behauptete, daß Nitrate in besonnten Blättern rasch verschwänden und organische Stickstoffverbindungen daraus formiert würden. Man versuchte späterhin mit mikrochemischen Reagentien: Diphenylamin-Schwefelsäure: MOLISCH (4), Cinchonamin: ARNAUD, CAPUS (5), zuletzt mit Nitron (6) den Nitratnachweis in Blättern zu führen. Schon SCHIMPER (7), der auf Grund mikrochemischer Erfahrungen wohl die beste Untersuchung über die Eiweißbildung in den grünen Organen der höheren Pflanzen ausgeführt hat, sprach sich dahin aus, daß die Nitrate in den Mesophyllzellen speziell zu Eiweiß verarbeitet werden, und daß man mit großer Wahrscheinlichkeit die Chloroplasten als den Sitz dieser Tätigkeit ansehen dürfe. Seine, sowie PALLADINS Ansicht, daß Glucose und Salpetersäure unter Bildung von Oxalsäure Asparagin liefern, ist allerdings durch chemische Gründe nicht plausibel zu machen. Erwähnt sei noch, daß BERTHELOT und ANDRÉ (8) eine Verarbeitung von Nitrat durch die Laubblätter auf Grund der Tatsache vermuteten, daß stark belaubte Boragopflanzen weniger Nitrate enthielten, als schwach belaubte Exemplare.

Jedenfalls muß in den Laubblättern eine Reduktion der Nitrate vor sich gehen, wenn Eiweißstickstoff aus Nitratstickstoff entstehen soll.

LAURENT (9) hat zuerst auf die Reduktion von Nitraten durch höhere Pflanzen aufmerksam gemacht, indem er zeigte, daß Keimpflanzen unter Ausschluß von Bacterien imstande sind, Nitrat zu Nitrit zu reduzieren. Trotzdem wurde diese Erscheinung lange Zeit als das Werk von Bacterien hingestellt (10). Überdies machten die Erfahrungen von MOLISCH und anderen Forschern (11) Eindruck, wonach Nitrite für

---

1) BALICKA IWANOWSKA, Bull. Ac. Sci. Cracovie (1903). — 2) SOROKIN, Justs Jahresber. (1875), p. 871. — 3) PAGNOUL, Ann. Agron., *5*, 481 (1879); *7*, 5 (1881). — 4) H. MOLISCH, Ber. bot. Ges., *1*, 150 (1883). Sitz.ber. Wien. Ak., Mai (1887), Bd. *95*, I, 221; Bot. Zentr., *31*, 154 (1887). — 5) A. ARNAUD u. L. PADÉ, Compt. rend., *98*, 1488; *99*, 190 (1884). Jedoch ELLRAM, Chem. Zentr. (1896), II, 99. $Ba(NO_3)_2$-Krystalle als Erkennungsmittel: R. BRAUNS, Jahrb. Mineral. (1897), I, 73; J. SCHRÖDER, VAN DER KOLK, Ebenda, 219. — 6) R. KLEIN, Beihefte Botan. Zentr., *30*, I, 141 (1913). — 7) A. F. W. SCHIMPER, Flora (1890), p. 207; Botan. Ztg. (1888), Nr. 9. — 8) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *99*, 355, 550, 591 (1884). — 9) E. LAURENT, Ann. Inst. Pasteur, *4*, Nr. 11 (1890). Bull. Soc. Agr. Roy. Belg. (3), *20*, 478 (1890); Beihefte Botan. Zentr., *2*, 434 (1892). Rec. Inst. Botan. Bruxelles, *3*, 41 (1908). — 10) Vgl. A. JORISSEN, Bull. Ac. Roy. Belg., *13* (1887). JODIN, Ann. Agron. (1897). — 11) H. MOLISCH, l. c. (1887), p. 234. RAULIN, l. c., p. 229. BIRNER u. LUCANUS, Landw. Vers.stat., *8*, 128 (1866); A. STUTZER, Journ. Landw., *54*, 125 (1906); *55*, 78 (1907). O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *72*, 311 (1910). Das als Zwischenprodukt der Nitratreduktion ebenfalls mögliche Hydroxylamin wirkt nach V. MEYER u. E. SCHULZE, Ber. chem. Ges., *17*, 1554 (1884) auch in seinen Salzen sehr giftig. Vgl. auch L. LUTZ, Congr. Soc. Sav. (1899).

Phanerogamen sehr schädlich sind, so daß man von der Eventualität einer intermediären Nitritbildung bei der Eiweißsynthese in Nitrat verarbeitenden Laubblättern ganz absah. Doch ist es einerseits nicht ausgeschlossen, daß Nitrite sogar durch die Wurzeln aufgenommen und verarbeitet werden können, sobald ihre Konzentration einen gewissen Grad nicht übersteigt (1), sowie wahrscheinlich auch für Pilze Nitritverarbeitung nicht unmöglich ist. Andererseits haben GODLEWSKI und POLSZENIUSZ (2) an keimenden Samen in steriler Kultur neuerdings die Nitritbildung aus Salpeter im anaeroben Leben festgestellt, und NABOKICH (3) konnte diese Erscheinung für den anaeroben Stoffwechsel steriler Keimlinge mittels der Jodreaktion bestätigen. Daß grüne Pflanzen ein Nitrat zu Nitrit reduzierendes Enzym enthalten, haben IRVING und HANKINSON (4) wahrscheinlich zu machen gesucht, auf Grund der Beobachtung, daß Wasserpflanzen in Gegenwart von Nitrat Asparagin zu Äpfelsäure verarbeiten. Doch hat MAZÉ (5) mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß nicht alle Vorkommnisse von Nitrit, welche man übrigens sehr verbreitet konstatieren kann, auf Reduktionsprozesse zurückgeführt werden müssen, sondern, wie auch BACH (6) betont hat, in vielen Fällen durch Oxydation aus Ammoniumverbindungen hervorgehen können. Die Angabe von ASO (7) über das Vorkommen von Nitrit in etiolierten Kartoffeltrieben ist allseitig bestätigt worden, auch von KLEIN (8), der auf Grund mikrochemischer Untersuchungen vielleicht zu weitgehend das Vorkommen von Nitrit, einer nur in kleinen Mengen sich ansammelnden höchst zersetzlichen Substanz, in Abrede stellen will. Auf das Vorkommen von salpetriger Säure (vielleicht in glucosidischer Bindung?) in den Blättern von Erythrina coralloides hat WEEHUIZEN (9) aufmerksam gemacht. Wenn sich auch andere Vorkommnisse von Nitrit, wie das von ASO behauptete, in Sagittaria und jenes in Fuchsia nach MODDERMANN (10) anzweifeln lassen, so ist es doch unwahrscheinlich, daß die erwähnten Befunde nur ausnahmsweise Vorkommnisse darstellen sollen. In der Tat ging MAZÉ so weit, zu behaupten, daß kleine Nitritmengen sehr allgemein vorkommen. Über den Verlauf des Überganges der Nitrate in die Aminogruppen des Eiweißes sind eine ganze Reihe von Hypothesen aufgestellt worden, die jedoch bisher einen sicheren Boden für Experimentalforschung nicht geschaffen haben. BACH (11) nahm an, daß aus HNO_3 zunächst HNO_2 entstehe, diese in $NH:O$ übergehe, welche mit H_2O Hydroxylamin $H_2N \cdot OH$ liefere. Mit dem durch Kohlensäurereduktion entstandenen Formaldehyd solle Formamid $COH \cdot NH_2$ gebildet werden. LAURENT und MARCHAL (12) halten es für möglich, daß das Formamid in Blausäure

---

1) Vgl. F. PERCIABOSCO u. V. ROSSO, Staz. Sper. Agr. Ital., *42*, 5 (1908); P. MAZÉ, Ann. Pasteur, *25*, 289 (1911). — 2) E. GODLEWSKI u. POLSZENIUSZ, Über die intramolekuläre Atmung usw. Krakau (1901), p. 252. DAVIDSON, Journ. Biol. Chem., *37*, 143 (1919) verhält sich solcher nichtbacterieller Nitritbildung gegenüber ablehnend. — 3) A. NABOKICH, Beihefte botan. Zentr., *13*, 325 (1903). Ber. bot. Ges., *21*, 398 (1903). — 4) A. IRVING u. R. HANKINSON, Biochem. Journ., *1*, 87 (1908). — 5) MAZÉ, Compt. rend., *152*, 1624 (1911); *153*, 357 (1911); *155*, 781 (1912). — 6) A. BACH, Biochem. Ztsch., *52*, 418 (1913). — 7) K. ASO, Beihefte Botan. Zentr., *15*, 208 (1903).; ebenda, *32*, I, 146 (1914). Nitrit (bacteriellen Ursprunges?) in kräuselkranken Kartoffeln und mosaikkrankem Tabak: BONCQUET, Internat. agr.-techn. Rdsch., *8*, 930 (1919). Journ. Amer. Chem., *39*, 2088 (1917). — 8) R. KLEIN, Beihefte Botan. Zentr., *30*, I, 161 (1913). — 9) F. WEEHUIZEN, Pharm. Weekbl., *44*, 1229 (1907). — 10) R. S. TJADEN MODDERMANN, Chem. Zentr. (1888), I, 377. Kritik bei R. KLEIN, l. c. — 11) A. BACH, Compt. rend., *122*, 1499 (1897); Arch. Sci. Phys. Genève (4), *5*, 520 (1898). — 12) LAURENT u. MARCHAL, l. c., p. 23 des Sep.-Abdr.

übergeht: $COH \cdot NH_2 = CNH + H_2O$, und bringen auch das von TREUB in Pangium entdeckte Vorkommen von Blausäure hiermit in Zusammenhang. Es läßt sich nicht in Abrede stellen, daß vom Formamid ein chemisch gangbarer Weg zu Aminosäuren führt; LÖB (1) erhielt durch stille elektrische Entladung aus Formamid Oxaminsäure, welche durch Reduktion Aminoessigsäure liefert. Ähnliche Vorgänge hält TRIER (2) für die Eiweißsynthese in Blättern für wahrscheinlich. Auch FRANZEN (3) will dem Formamid eine derartige intermediäre Rolle zuschreiben. Hingewiesen sei ferner auf die Beobachtungen von POLSTORFF und MEYER (4) über die Entstehung von Glycolsäurenitril aus Cyankalium und Formaldehyd. Am weitesten ist BAUDISCH (5) auf dem Wege solcher Spekulationen gegangen, indem er die Nitratverarbeitung in den Laubblättern direkt als lichtchemischen Vorgang hinstellte, und das durch Sauerstoffabspaltung aus Nitrit entstehende Nitrosyl NOH mit Formaldehyd zu Formhydroxamsäure werden läßt. Ohne in die Details dieser Vorstellungen einzugehen, sei bemerkt, daß O. LOEW (6) dagegen den berechtigten Einwand erhoben hat, daß die Eiweißsynthese ein auch im Dunkeln und ohne Chlorophyll allgemein vor sich gehender Vorgang ist, und wir kein Recht haben, für die Laubblätter eine ganz exzeptionelle Methode der Eiweißsynthese in Anspruch zu nehmen. STOKLASA (7) vertritt übrigens ebenfalls eine dualistische Ansicht über die Eiweißsynthese, wenn er annimmt, daß die photosynthetische Eiweißbildung ohne Mitwirkung von Kali verläuft, hingegen für die Eiweißsynthese bei jungen Pflanzen unter Abschluß von Licht das Kalium-Ion nötig sei.

Nach LOEW (8) ist Reduktion von Nitrat zu Ammoniak auf katalytischem Wege unter bestimmten Bedingungen erzielbar, und es legen auch verschiedene Erfahrungen auf tierphysiologischem Gebiete nahe, daß Enzyme existieren, welche Nitrate zu Nitrit reduzieren. Wenigstens ist es möglich, in aseptischer Autolyse von Organbrei die Entstehung von Nitrit aus zugesetztem Nitrat zu beobachten (9). Auf botanischem Gebiete steht die Verfolgung dieser Erscheinung noch aus. Überlegungen über den Übergang der Nitrogruppe in die NH_2-Gruppe, im Anschluß an Versuche mit Hefe, findet man bei NEUBERG (10), der mit Recht hervorhebt, daß eine direkte Reduktion kaum denkbar ist.

Im Hinblick auf die geschilderten Verhältnisse der Nitratverarbeitung

---

1) W. LÖB, Ber. chem. Ges., *46*, 684 (1913). — 2) G. TRIER, Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweißstoffe. Berlin 1912, p. 48. — 3) H. FRANZEN, Sitz.ber. Heidelberg. Akad. (1910), 9. Abh. Journ. prakt. Chem., *86*, 133 (1913) — 4) K. POLSTORFF u. H. MEYER, Ber. chem. Ges., *45*, 1905 (1912). — 5) O. BAUDISCH, Zentr. Bakt., II, *32*, 520 (1911); BAUDISCH u. E. MAYER, Ber. chem. Ges., *45*, 1771 (1912); ebenda, 2879; *46*, 115 (1913); *44*, 1009 (1911). Ztsch. angew. Chem., *26*, 612 (1913). Ztsch. physiol. Chem., *89*, 175 (1914); Vierteljahrschr. Nat. Ges. Zürich, *58*, 10 (1913); Die Naturwissenschaften, *2*, 199 (1914). Besonders die Angaben über die Bildung alkaloidähnlicher Verbindungen sind mit Reserve hinzunehmen. Ferner O. BAUDISCH, Verh. Naturf. Ges., 1913, II, *1*, 317; Ber. chem. Ges., *49*, 1159, 1167, 1176 (1916); *50*, 652 (1917); *51*, 793 (1918); *52*, 35 u. 40 (1919). — 6) O. LOEW, Biochem. Ztsch., *41*, 224 (1912); Chem.-Ztg. (1912), Nr. 7. Ber. chem. Ges., *50*, 909 (1917). — 7) J. STOKLASA, Beiträge zur Kenntnis der Ernährung der Zuckerrübe. Jena 1916; Biochem. Ztsch., *73*, 107 (1916). — 8) O. LOEW, Ber. chem. Ges. (1890), p. 675; vgl. auch J. H. KASTLE u. ELVOVE, Amer. chem. Journ., *31*, 606 (1904). Zur Nitratreduktion im Licht: vgl. B. MOORE, Proc. Roy. Soc., B, *90*, 158 (1918); MOLLIARD, Compt. rend., *163*, 371 (1916). — 9) E. ABELOUS u. E. GÉRARD, Compt. rend., *129*, 56 (1899); A. STEPANOW, Arch. exp. Path., *47*, 411 (1902). — 10) NEUBERG u. WELDE, Biochem. Ztsch., *67*, 18 (1914).

in grünen Blättern ist es nicht ohne Interesse, daß LUTZ (1) fand, daß chlorophyllfreie phanerogame Parasiten und Humuspflanzen reichlich Nitrat zu führen pflegen. Die Versuche von MIRANDE (2) über die Nitrataufnahme durch Holoparasiten scheinen mir zu einem definitiven Ergebnis nicht geführt zu haben.

ACQUA (3) versuchte die Orte der Nitratverarbeitung im Gewebe dadurch zu markieren, daß er Nitrate mit zurückbleibendem, leicht nachweisbarem Anion, wie Uranylnitrat, Manganonitrat, darreichte, und schloß aus den stellenweise eintretenden Färbungen durch kolloide Metallniederschläge auf die Lokalisation der Nitrataufnahme. Doch ist es unsicher, ob diese Methode tatsächlich dem geplanten Zwecke genügt (4). Nach DONY-HÉNAULT (5) begünstigen übrigens Mangansalze die Nitratreduktion durch grüne Pflanzen am Lichte. ERMAKOW (6) fand, daß Kalksalze deutlich die Nitratverarbeitung durch grüne Pflanzen fördern. Darreichung von Schwermetallnitraten hat im allgemeinen schädlichen Einfluß (7). Der Zusammenhang des Blausäuregehaltes vieler Blätter mit der Eiweißsynthese läßt sich an dieser Stelle mangels genügender Einsicht in diesen Vorgang noch nicht behandeln. Da TREUB (8) fand, daß die Blätter auf dem Höhepunkt ihres Eiweißumsatzes die meiste Blausäure enthalten, so ist es wahrscheinlich, daß es sich nicht um ein bloßes Ausscheidungsprodukt handelt. Es sei auch darauf hingewiesen, daß man Blausäure synthetisch im elektrischen Lichtbogen aus Methan, Stickstoff und Wasserstoff gewonnen hat (9), und Reduktionsprozesse in den Blättern möglicherweise in paralleler Weise tätig sind (10).

Die Anhäufung der Nitrate in manchen Pflanzen, wie in den Boragaceen, Solanaceen, Urticaceen, Chenopodiaceen (11) ist bekannt. Auch die Sambucusarten sind sehr nitratreich. Nach COUPEROT (12) scheint hier Nitrat und Cyanwasserstoff im Laufe der Entwicklung abzunehmen. Nach den oben angeführten Versuchen ist anzunehmen, daß die Nitratreduktion sowohl im Dunklen als im Licht vor sich geht, daß aber belichtete Blätter viel mehr Nitrat verarbeiten als im Dunklen. Auch SCHIMPER fand, daß im Dunklen eine Anhäufung von Nitrat eintritt, welche sich bei Lichtzutritt wieder verliert. In Widerspruch mit den übrigen Angaben befinden sich die Resultate von KOSUTANY (13), wonach bei halbierten Blättern von Vitis riparia nachts weniger Nichtprotein-N

---

1) L. LUTZ, Compt. rend., *154*, 1247 (1912); Bull. Soc. Botan. (4), *8*, 104 (1908); Compt. rend. Congr. Soc. Sav. Paris (1908), p. 156. — 2) M. MIRANDE, Compt. rend., *145*, 507 (1907). Über Cuscuta: THODAY, Ann. of Bot., *25*, 655 (1911). — 3) C. ACQUA, Rend. Acc. Linc. Roma (5), *19*, I, 339 (1910); Annali di Botan., *11*, 281 (1913). — 4) Vgl. HOUTERMANS, Sitz.ber. Wien. Ak., *121*, I, 801 (1914). — 5) O. DONY-HÉNAULT, Bull. Soc. Chim. Belg., *26*, 266 (1912). Ac. Roy. Belg. (2), *3*, 4 (1911). — 6) W. P. ERMAKOW, Nachr. d. Univ. Kiew, *48*, 1 (1908). — 7) F. PLATE, Atti Acc. Linc. (5), *22*, II, 728 (1913). — 8) M. TREUB, Ann. Jard. Bot. Buitenzorg (2), *8*, 85 (1909). — 9) Vgl. J. MOSCICKI, Ztsch. Elektrochem., *17*, 877 (1911). — 10) Cyanatbildung aus Nitrat beim Erhitzen mit Kohle: A. LIDOW, Journ. russ. phys.chem. Ges., *43*, 651 (1911). — 11) Vgl. LUTZ, Compt. rend. Congr. Soc. Sav. Paris (1908), p. 156. Viel Nitrat in Blättern von Senecio jacobaea nach KEEGAN, Chem. News, *112*, 203 (1915); Papaver rhoeas und somniferum: ebenda, *113*, 85 (1916); Rumex sanguineus: ebenda, *114*, 74 (1916); Phytolacca nach SPALLINO, Annal di chim. appl., *1*, 502 (1914). — 12) E. COUPEROT, Soc. Biol., *61*, 180 (1906). — 13) KOSUTANY, Landw. Vers.stat., *48*, 13 (1896). A. STUTZER, Biochem. Ztsch., *56*, 220 (1913) fand bei Tabakpflanzen (für die Harnstoffnitrat die beste N-Quelle war) durch Beschattung den N-Gehalt der Blätter von 2,31 auf 5,3% erhöht. Dabei wird wohl die Wasserversorgung resp. Verminderung allzustarker Transpiration der entscheidende Faktor gewesen sein.

und mehr Eiweiß-N vorhanden ist als bei Tage, und außerdem bei Tage mehr Nitrat-N nachzuweisen ist. KOSUTANY wollte daraus schließen, daß in der Nacht die nichteiweißartigen N-Verbindungen in größerer Menge in Eiweiß übergehen als bei Tage.

Eiweißbildung in Laubblättern bei Darreichung von Ammoniumsalzen ist ebenfalls durch eine Reihe experimenteller Erfahrungen sichergestellt worden. Nach MAZÉ (1) wirken Ammoniumsalze gleich gut wie Nitrate, nur darf eine gewisse niedrige Konzentrationsgrenze nicht überschritten werden. Wenn man die Erfahrungen von TAKABAYASHI (2) dahin deuten darf, so tritt diese schädliche Wirkung besonders bei Abwesenheit von Zucker hervor, und es würde bei Ammoniakdarreichung eine sehr reichliche Zuckerzufuhr angezeigt sein. HANSTEEN (3) fand für die Eiweißbildung von Lemna Ammoniumchlorid und Sulfat im Verein mit Zucker sehr günstig. Für den Erfolg der Ammoniak- und Nitratdarreichung bei etiolierten Hordeumpflänzchen gab KINOSHITA (4) folgende Zahlen:

Hordeum 1 Woche hindurch begossen mit:	Wasser	1 % NH_4Cl	äquival. $NaNO_3$
enthielt Gesamt-N	3,512 %	4,436 %	4,925 %
Protein-N	2,704 %	2,126 %	2,066 %
Asparagin-N	0,656 %	2,027 %	0,977 %
Bei Mais 4 Tage belichtet aufgestellt:			
Gesamt-N	4,13 %	4,23 %	4,15 %
Asparagin-N	0,38 %	0,73 %	0,24 %

Hinsichtlich der quantitativen Versorgung der Pflanzen mit Nitrat und Ammoniumsalzen unter den natürlichen Lebensverhältnissen sei auf die Analysen von Regenwasser und von Drainwasser in ungedüngtem Brachlande von MILLER (5) hingewiesen.

Daß als erstes Stadium der Nitratassimilation sowie der Assimilation von Ammoniak in den Blättern die Bildung von Aminosäuren anzunehmen ist, ist schon von KELLNER und sodann von EMMERLING näher ausgeführt worden (6). Nach EMMERLING sind die Laubblätter die hauptsächlichen Bildungsherde von Aminosäuren in der Pflanze, wenn auch Wurzel und Stengel in gewissem Grade beteiligt sind. Die Vegetationspunkte sowie junge Früchte und Samen besitzen nach EMMERLING die Fähigkeit, Eiweiß aus Aminosäuren aufzubauen. Nach EMMERLINGS Analysen an einjährigen Gewächsen nimmt der Gesamt-N und der Eiweiß-N in den Blättern bis zur Blütezeit der Pflanze fortwährend zu, und bleibt hierauf bis zum Absterben der Pflanze fast konstant, trotz des großen N-Bedarfes der heranreifenden Samen. Der Nichtprotein-N nimmt meist auch in den späteren Stadien nach der Blütezeit in den Blättern nicht ab; die Abnahme betrifft nur den Aminosäure-N und den Gesamtamid-N. Erst in den letzten Stadien verringert sich auch der Nichteiweiß-N. In Samen und Hülsen von Vicia Faba verminderte sich jedoch auch der Nichtprotein-N während der Reifezeit stark. Der Quotient aus Nichtprotein-N : Gesamt-N nimmt allgemein mit zunehmender Reife ab. Zur

---

1) MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *14*, 26 (1900); Compt. rend., *127*, 1031 (1899) — 2) TAKABAYASHI, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *3*, 265 (1897). SUZUKI, Ebenda, *2*, Nr. 7 (1897). — 3) B. HANSTEEN, Ber. bot. Ges., *14*, 362 (1896). — 4) KINOSHITA, Bull. Coll. Agric. Tokyo, *2*, 200 (1897). — 5) N. H. J. MILLER, Journ. Agr. Sci., *1*, 280, 377 (1905). Vgl. auch F. MARSHALL, Die Naturwiss., *1*, 791 (1913). — 6) O. KELLNER, Landw. Jahrb., *8*, 243 (1879). EMMERLING, Landw. Vers.stat. (1880), p. 113; *34*, 1 (1887); Justs Jahresber. (1884), I, 73.

Ergänzung dieser Angaben seien folgende Zahlen aus EMMERLINGS Analysen angeführt:

Datum	Gesamt-N in Proz. der Trockensubstanz			Aminosäure-N in Proz. der Trockensubstanz		
	Wurzel	Blätter	Samen	Wurzel	Blätter	Samen
9. Juni . .	3,09	4,54	—	0,312	0,370	—
3. Juli . . .	2,04	5,29	—	0,327	0,325	—
28. Juli . . .	—	5,38	6,65	—	0,357	0,844
7. Aug. . .	—	—	5,10	—	—	0,887
18. Aug. . .	—	4,59	8,77	—	0,211	0,342
1. Sept. . .	1,58	3,81	4,38	0,106	0,146	0,142
9. Okt. . . .	—	—	4,43	—	—	0,045

GODLEWSKI hat mitgeteilt, daß sowohl bei belichteten als bei verdunkelten Triticumpflänzchen diejenigen, welche sich unter Darreichung von Nitrat entwickelt hatten, mehr Nichtprotein-N enthielten, als die in N-freier Lösung entwickelten Pflänzchen:

	Nitratdarreichung	N-freie Lösung
Lichtpflanzen	43,12	21,68 % an organ. Nichtprotein-N
Dunkelpflanzen	44,12	23,64 % „ „ „

Daß gerade Asparagin, welches bei Verdunkelung in den Blättern ebenso reichlich auftritt wie bei Keimpflanzen, als intermediäres Produkt bei der Eiweißsynthese anzusehen ist, wie C. O. MÜLLER (1) annimmt, ist wohl nicht begründet. BUTKEWITSCH (2) hat mit Recht hervorgehoben, daß das Asparagin bei der Eiweißumwandlung in verdunkelten grünen Pflanzen ebenso als sekundäres Produkt anzusehen ist wie in Keimpflanzen. Mit diesem Forscher (3) könnte man sich vorstellen, daß die Asparaginbildung damit zusammenhängt, daß das aus den bei eingetretenem Zuckermangel reichlicher angegriffenen stickstoffhaltigen Bestandteilen stammende Ammoniak im Asparagin festgelegt wird. Doch scheint mir dieser Gedanke das Problem nur teilweise anzuschneiden, und die Ursachen der Bildung der Bernsteinsäuregruppe im Asparagin bleiben unberührt. Dasselbe ließe sich gegen die verwandten Anschauungen von PRIANISCHNIKOW (4) vorbringen, welcher annimmt, daß die Überschüsse des durch die Wurzeln zugeführten Ammoniaks in Form von Asparagin gespeichert werden.

So fehlen uns bezüglich des Entstehungsmodus der Aminosäuren in den Blättern die nötigen chemischen Grundlagen vollständig. Am meisten von allen bisher geäußerten Meinungen hinsichtlich dieses wichtigen Problems sind die Vorstellungen von ERLENMEYER jun. (5) einer experimentellen Prüfung wert, wonach die Formierung von α-Aminosäuren aus α-Oxysäuren, z. B. Glyoxylsäure, mit Ammoniak in Frage kommt, und ebenso die Beziehungen der Aminosäuren zu den Ketosäuren, welche schon bei der Besprechung des Aminosäureabbaues eine Behandlung erfahren haben.

Die Verarbeitung fertig dargereichter Aminosäuren durch Laubblätter zu Eiweiß versuchte HANSTEEN (6) durch Versuche an Lemna

1) C. O. MÜLLER, Landw. Vers.stat., *33*, 311 (1886). — 2) WL. BUTKEWITSCH, Biochem. Ztsch., *12*, 314 (1908). — 3) Derselbe, Ebenda, *41*, 431 (1912). — 4) D. PRIANISCHNIKOW, Russ. Journ. f. exp. Landw., *13*, Heft 5 (1912); Rev. gén. Botan., *25*, 5 (1913). — 5) ERLENMEYER jun. u. KUNLIN, Ber. chem. Ges., *35*, 2438 (1902); Lieb. Ann., *337*, 205 (1904). — 6) B. HANSTEEN, Ber. bot. Ges., *14*, 362 (1896); Jahrb. wiss. Botan., *33*, 417 (1899).

zu erläutern. Im Dunklen stehende Lemnakulturen wurden mit Zucker und Aminosäuren versorgt, und es ergab sich durch einige Kombinationen, wie Asparagin mit Glucose und Saccharose, aber auch Harnstoff mit Glucose, eine durch die MILLONsche Reaktion verfolgbare Eiweißvermehrung gegenüber Kontrollpflanzen. Keine Resultate wurden hingegen mit Leucin, Alanin oder Kreatin erzielt. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Keimlingen von Faba und Ricinus erhalten, wobei sich auch Glutamin als verwendbar erwies. Weitergehende Schlüsse sind aber aus diesen nicht durch quantitativ-analytische Belege gestützten Versuchen kaum zu ziehen. Man könnte höchstens vermuten, daß auch bei den durch Asparagin und Glutamin erzielten günstigen Effekten nur Verarbeitung des abgespaltenen Amid-N in Frage kommt, und die Versuche aus irgend welchen Gründen hinsichtlich des Monamino-N keine Entscheidung herbeiführen konnten. Hinzuweisen ist jedenfalls darauf, daß Monaminosäuren durch alle bisher untersuchten niederen Pflanzen gut verarbeitet werden und überdies SCHULZE (1) für Leucin und Tyrosin die Aufnahme durch Phanerogamen beobachtet hat. NAKAMURA (2) fand, daß Asparagin die Eiweißbildung bei etiolierten Hordeumpflänzchen stärker fördert als Darreichung von bernsteinsaurem Ammonium. Die Aufnahme von Asparagin durch abgeschnittene Laubblätter bei Lichtzutritt hat SAPOSCHNIKOW (3) sichergestellt und auch die Eiweißvermehrung bestimmt. Hier, wie bei der Eiweißsynthese unter Nitratdarreichung, wird augenscheinlich sehr rasch Eiweiß gebildet, so daß sich beim natürlichen Prozesse eine geringere Menge Kohlenhydrat nachweisen läßt, als der aufgenommenen Kohlensäuremenge entspricht. Offenbar ist bereits ein Teil des gebildeten Zuckers in der Eiweißsynthese und in anderen Vorgängen verbraucht worden. Doch möchte ich deshalb nicht mit SAPOSCHNIKOW das Eiweiß als primäres Assimilationsprodukt ansehen. Vermehrter Kohlensäuregehalt der Luft steigert nach den Erfahrungen von SAPOSCHNIKOW den Effekt der Eiweißsynthese nicht. Bei schwacher Beleuchtung kann Eiweißzunahme ohne gleichzeitige Kohlenhydratvermehrung erfolgen, ja es kann sich dabei die Kohlenhydratmenge sogar verringern. Bei Verdunkelung „wandert" das Eiweiß aus den im Zusammenhange mit der Pflanze stehenden Blättern, ebenso wie die Kohlenhydrate aus, was schon früher A. MEYER bewiesen hatte. Versuche von PALLADIN (4), in welchen Zuckerlösung etiolierten Keimblättern von Vicia Faba dargereicht wurde, zeigten, daß die Eiweißsynthese durch stärker brechbare Lichtstrahlen begünstigt wird. Hier dienten die Spaltungsprodukte der Reserveproteide als Bildungsmaterial. Im übrigen ist die Frage, ob das Licht einen Einfluß auf die Eiweißsynthese bei Darreichung von Aminosäuren und Zucker haben kann, noch nicht endgültig zu beantworten. Zum Beweise der Eiweißsynthese in den natürlich vegetierenden Laubblättern können schließlich Erfahrungen (5) herangezogen werden, welche zeigten, daß der Prozentgehalt an Gesamt-N in assimilierenden Blättern, bei denen man einseitig die Abfuhr der gebildeten Stoffe durch Durchtrennung der Leitbündelstränge unmöglich gemacht hat, trotz bedeutend erhöhten Gehaltes an Kohlenhydraten, ziemlich unverändert bleibt. Bezüglich des Sitzes der Eiweißsynthese ist die

---

1) E. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *56*, 97 (1901); *57*, 293 (1902). SCHULZE u. KISSER, Ebenda, *36*, 1 (1889). — 2) T. NAKAMURA, Bull. Agr. Coll. Tokyo., II, 465 (1897). — 3) W. SAPOSCHNIKOW, Bot. Zentr., *63*, 246 (1895). Justs Jahresber. (1895), I, 297. — 4) W. PALLADIN, Rev. gén. Botan., *11*, 81 (1899). — 5) F. CZAPEK, Sitz.ber. Wien. Ak., *106*, I, 1. März 1897, p. 122.

zuerst von SCHIMPER (1) ausgesprochene Ansicht, daß die Proteinbildung vorzüglich in den Mesophyllzellen stattfinde, immer wahrscheinlicher geworden. Die abweichende Ansicht von A. FISCHER (2), wonach die Geleitzellen der Siebröhren die Stätte der Eiweißbildung sein sollen, ist recht wenig plausibel. In neuerer Zeit ist wiederholt die Meinung geäußert worden, daß man direkt die Chloroplasten als Organe der Eiweißsynthese auffassen könne. Dazu neigte SCHIMPER, ferner CHRAPOWITZKY (3), welcher darauf aufmerksam machte, daß bei der Eiweißbildung von ausgehungerten Pflanzen zunächst in den Chloroplasten die Eiweißanreicherung nachzuweisen ist. Ähnliche Erfahrungen sammelte A. MEYER an Tropaeolumblättern (4). Schon früher hatte MONTEVERDE (5) auf das Fehlen von Kalisalpeter im Mesophyll hingewiesen, und ZACHARIAS (6) gefunden, daß bei Orchis-Arten Eiweißstoffe besonders reichlich in den Chlorophyllkörnern des Mesophylls und in den Leukoplasten der Epidermiszellen vorkommen. Doch alle diese Befunde vermögen die Annahme, daß gerade die Chloroplasten eine entscheidende Rolle bei der Eiweißsynthese spielen, nicht streng zu beweisen, wenn hierfür auch manche beachtenswerte Momente sprechen. Viel weniger begründet ist es, eine Tätigkeit des Zellkernes bei der Eiweißsynthese anzunehmen, wie es früher mehrfach versucht worden ist (7). Über den Ort der Synthese der Nucleoproteide läßt sich gleichfalls nichts Bestimmtes angeben (8), doch scheinen die Vegetationsspitzen Stellen lebhafter Neubildung von Nuclein zu sein, wenn man auch für jede teilungsfähige Zelle die Fähigkeit zur Nucleinsynthese anzunehmen haben wird.

Die Frage, inwieweit die Eiweißsynthese durch Darreichung verschieden hoher Dosen von Ammoniaksalzen, Nitraten oder Aminosäuren gesteigert werden kann, bedarf noch der exakten Untersuchung. Praktische Versuche zeigten, daß man durch sehr starke N-Düngung eine namhafte Eiweißvermehrung erzeugen kann, doch dürfte nach AD. MAYER (9) die Proteinbildung über eine gewisse naheliegende Grenze nicht gesteigert werden können, so daß in der Nähe dieses Grenzwertes die Stickstoffnahrung nur ungenügend ausgenützt wird. Ungewiß ist es, ob die Förderung der Chlorophyllbildung durch reichliche N-Zufuhr (10) mit einer Steigerung der Eiweißbildung zusammenhängt. Auch auf die Wichtigkeit der Phosphatzufuhr hat MAYER (11) aufmerksam gemacht. Hierüber sind ferner neuere Arbeiten von IWANOW und von SCURTI einzusehen (12).

---

1) A. F. W. SCHIMPER, l. c. — 2) A. FISCHER, Sitz.ber. Kgl. sächs. Ges. d. Wiss. Leipzig (1885), p. 276. Die große Menge von Eiweißstoffen, welche nach wiederholten Analysen (DAVY, Elem. d. Agric. Chem. (1814), p. 166; ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1884), p. 65; GR. KRAUS, Sitz.ber. Nat. Ges. Halle (1884) im Siebröhreninhalte vorkommt, dürfte, wie derzeit ziemlich allgemein nach dem Vorgange von J. SACHS angenommen wird (vgl. auch CZAPEK, l. c. 1897) irgendwie mit Stofftransporten zusammenhängen. Nur BLASS, Ber. bot. Ges. (1890), p. 56; Jahrb. wiss. Bot., *22*, 253 (1890) wollte dies (wohl unberechtigterweise) in Abrede stellen. — 3) W. CHRAPOWITZKY, Botan. Zentr., *39*, 352 (1889); Justs Jahresber. (1887), I, 164. Vgl. auch STRASBURGER, Leitungsbahnen, p. 918. — 4) A. MEYER, Flora, *111*, 85 (1918). — 5) MONTEVERDE, Justs Jahresber. (1882), I, 57. — 6) E. ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1883), p. 209. — 7) Vgl. E. STRASBURGER, Zellbild. u. Zellteilung, 3. Aufl., p. 371. HABERLANDT, Lage u. Funktion des Zellkerns (1887), p. 116, hat bereits mit Recht diese Ansicht für unerwiesen erklärt. — 8) L. IWANOW, Botan. Zentr., *101*, 488 (1906). — 9) AD. MAYER, Landw. Vers.stat., *55*, 453 (1901). — 10) Vgl. GILBERT, Chem. News (1886); H. MÜLLER, Biedermanns Zentr. Agr. Chem., *24*, 454. Nach J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *42*, 281 (1918), sind helle Blätter der Zuckerrübe N-ärmer als dunkelgrüne. — 11) A. MAYER, Landw. Vers.stat., *41*, 433 (1892). — 12) L. IWANOW, l. c. F. SCURTI, Staz. Sper. Agr. Ital., *41*, 456 (1908); Ann. Staz. Chim. Agr. Sper. Roma (2), *2*, 246 (1908).

Salzlösungen, 0,3 bis 0,4% NaCl, entfalten nach HANSTEEN einen entschieden hemmenden Einfluß auf die Eiweißbildung aus Zucker und Asparagin bei Lemna. Weiter verfolgt wurde diese Erscheinung bisher nicht.

Das Endergebnis unserer Darlegungen über die Eiweißsynthese in den Laubblättern ist daher in vielen Hauptpunkten ein gänzlich negatives, und wir wissen heute nicht, wie es möglich ist, die verschiedenen Aminosäurekerne des Eiweißes aus dem einheitlichen Materiale zu formieren und gesetzmäßig miteinander zu vereinigen. Nach OSBORNE (1) könnte man annehmen, daß die Pflanzen darin der tierischen Zelle voraus sind, daß sie die cyclischen Eiweißkerne: Tyrosin und Tryptophan, konstruieren können, wogegen Tiere bei Darreichung eines tyrosin- und tryptophanfreien Proteins oder Aminosäuregemisches ihr Stickstoffgleichgewicht nicht aufrecht erhalten können. Deshalb kann Tieren Fütterung mit Asparagin allein die Eiweißnahrung nicht ersetzen (2). Aber davon abgesehen, daß den Tieren (ob auch manchen Pflanzen?) die Eigenschaft der „Cyclopoiese" (OSBORNE) fehlt, können auch tierische Organismen ihr arteigenes Eiweiß nicht anders gewinnen, als daß sie das aufgenommene Eiweiß bis in die Aminosäuren zerlegen, und aus diesen ihr eigenes Eiweiß aufbauen, so daß man das Nahrungseinweiß auch durch ein vollständiges Gemisch aller nötigen Aminosäuren vollkommen ersetzen kann (3).

Sechsundvierzigstes Kapitel: Die Aufnahme von Stickstoffverbindungen durch die Wurzeln.

§ 1.

Allgemeine Bemerkungen. Resorption von Ammoniaksalzen.

Nach Widerlegung der Meinung, daß der freie Stickstoff der Luft durch die oberirdischen Teile der Pflanzen aufgenommen und ausgenutzt werden könne, war man auf die Annahme hingewiesen, daß die Aufnahme von Stickstoffverbindungen durch die Wurzeln aus dem Substrate als die ausschließliche Art der Versorgung mit Stickstoff für die höheren Pflanzen zu betrachten sei. Es war, wie bekannt, das Verdienst von BOUSSINGAULT (4), in einer langen Reihe von erschöpfenden und musterhaft kritischen Experimentaluntersuchungen gezeigt zu haben, daß die phanerogamen Gewächse nicht dazu befähigt sind, den Luftstickstoff auszunutzen; der Wert dieser Untersuchungen vermindert sich in keiner Weise dadurch, das BOUSSINGAULT das lange vorher bekannte auffällige Verhalten der Leguminosen, welches durch die Stickstoffixierung in ihren Wurzelknöllchen bedingt, hierbei nicht gewürdigt hat. Die Arbeiten HELLRIEGELS, denen sich die bestätigenden Versuche von P. WAGNER anreihen, zeigten in klarster Weise, die Abhängigkeit des Gedeihens

---

1) TH. B. OSBORNE u. L. B. MENDEL, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 367 (1912). — 2) M. MÜLLER, Pflüg. Arch., *117*, 497 (1907). — 3) Vgl. H. LÜTHJE, Pflüg. Arch., *113*, 547 (1906); Ber. Senckenberg. nat.forsch. Ges. Frankfurt (1908), p. 102. — 4) J. B. BOUSSINGAULT, Agronomie, *1*, 1—136; *2*, 307. Die Landwirtschaft, deutsche Übersetzung, *4*, 267.

verschiedener phanerogamer Pflanzen von dem Reichtume des Bodens an N-Verbindungen, von deren Aufnahme durch die Wurzeln die Eiweißsynthese in der Pflanze somit überhaupt in erster Linie bestimmt wird. Wünschenswert wäre es, diese Studieu für die verschiedenen Formen der Wasserpflanzen zu erweitern, wodurch möglicherweise noch interessante biologische Tatsachen aufgedeckt werden könnten, und eine etwaige Teilnahme der submersen und schwimmenden Blätter an der Stickstoffgewinnung richtig eingeschätzt würde (**1**).

Vor den Arbeiten von SAUSSURE (**2**) herrschte über den Modus der Stickstoffbeschaffung der Pflanzen wenig Klarheit, und verschiedene Forscher hielten es für zulässig, an eine Aufnahme von Luftstickstoff durch alle grünen Teile zu denken. SAUSSURE lenkte bereits die Aufmerksamkeit auf die Möglichkeit, daß der Ammoniakgehalt der Atmosphäre, welcher dem Boden stets kleine NH_3-Mengen durch die Niederschläge mitteilt, mit der N-Versorgung der Gewächse in Beziehung gebracht werden könne, eine Ansicht, die bekanntlich später von LIEBIG (**3**) näher ausgeführt und energisch vertreten worden ist. Wir finden zu dieser Zeit auch bei DUMAS (**4**) und SCHATTENMANN (**5**) die Bedeutung von Ammoniumsalzen als Düngermaterial einer Würdigung unterzogen, während die hervorragende Eignung und biologische Wichtigkeit der salpetersauren Salze erst etwas später durch BOUSSINGAULT gebührende Beachtung erlangte.

Die Synthese von Eiweißstoffen aus dem aufgenommenen Material findet partiell wahrscheinlich bereits in den Wurzeln statt, wenn auch aus den im vorigen Kapitel dargelegten Tatsachen der Schluß gestattet ist, daß weitaus die größte Menge der aufgenommenen N-Verbindungen erst in den Assimilationsorganen zu Proteinsubstanzen verarbeitet wird, wo die reichliche Gegenwart von Zucker und auch die wirksamen Faktoren von Wärme, Licht und Sauerstoffzutritt in günstigster Weise ihre Wirkung entfalten können. Von dem unglücklichen Versuche MULDERS (**6**), welcher eine Proteinsynthese in den Wurzelenden auf Kosten der Huminstoffe als den wichtigsten Vorgang der Eiweißbildung in der Pflanze annahm, darf man heute absehen. In neuerer Zeit hat MÜLLER-THURGAU (**7**) interessante Beobachtungen gesammelt, die auf eine Eiweißbildung in den Wurzeln selbst bezogen werden können. Von dem Wurzelsystem verschiedener Pflanzen entfernte der genannte Forscher alle Seitenwurzeln bis auf vier, von denen er je zwei in eine stickstoffreie und in eine vollständige Nährlösung tauchen ließ. Nach Verlauf einiger Zeit waren an den beiden, aus den belassenen Seitenwurzeln entstandenen Wurzelsystemen sehr erhebliche Differenzen in der Entwicklung zugunsten der mit N versorgten Wurzeln sichtbar. Allerdings spielen bei derartigen Versuchen Wachstumsreize und Korrelationen eine so große Rolle, daß der Ernährungserfolg und die Möglichkeit einer lokalen Eiweißsynthese nicht als allein wirksamer Faktor bei diesen Resultaten angesehen werden kann. Übrigens wissen wir aus verschiedenen Beobachtungen [PETERMANN, KOSINSKI (**8**)], daß Stickstoffhunger Überverlängerung der Wurzeln,

1) Einige biologische Gesichtspunkte entwickelt H. FISCHER, Arch. Hydrobiol., *II*, 417, besonders hinsichtlich der Ansiedelung N-fixierender Bacterien an Wasserpflanzen. — **2**) TH. DE SAUSSURE, Rech. chim. sur la végét. (1804), p. 206. — **3**) J. v. LIEBIG, Die Chemie u. ihre Anwendung usw. (1843), p. 303. — **4**) DUMAS, Ann. Chim. et Phys. (3), *4*, 116 (1842). — **5**) SCHATTENMANN, Ebenda (3), *II*, 236 1844). — **6**) MULDER, Physiol. Chem. (1844), p. 765. — **7**) MÜLLER-THURGAU, Biedermanns Zentr. Agr. Chem. (1880), p. 42. Ann. Önol., *8*, 239 (1880); *25*, 595 (1896). — **8**) A. PETERMANN, Justs Jahresber. (1890), I, 55. KOSINSKI, zit. bei

besonders bei Zuckerdarreichung erzeugt, während Stickstoffernährung das Wachstum der Wurzeln relativ herabsetzt und das Stengelwachstum begünstigt. GODLEWSKI (1) fand in Bestätigung dieser Angaben, daß von der Gesamttrockensubstanz der Pflanze das Wurzelgewicht die höchsten Werte in N-freien zuckerhaltigen Nährlösungen erreicht.

Vielleicht läßt es häufig die Konkurrenz der nitratbildenden Bacterien im fruchtbaren Ackerboden kaum zu, daß die Kulturgewächse erheblichere Mengen von Ammoniumsalzen aufnehmen können. In Hochmoorboden steht jedoch nach RITTER (2) gar kein Nitrat, sondern nur organischer Stickstoff und Ammoniumsalze zur Verfügung. In den von ihm untersuchten unbebauten Böden fand A. BAUMANN (3) nur unbestimmbare Spuren von Nitrat und wenige Milligramm NH_4-Stickstoff pro Kilogramm Boden. Ob man daraus auf eine Prävalenz der Aufnahme von NH_4-Stickstoff gegenüber Nitrat-N bei den auf solchen Böden gedeihenden Pflanzen schließen darf, ist zweifelhaft. Die Konkurrenzfrage zwischen Nitrat und Ammoniak in der N-Versorgung der Blütenpflanzen auf verschiedenem Bodensubstrat bedarf gewiß noch weiterer Untersuchung (4). Über der Erkenntnis der natürlichen Wichtigkeit und der hohen Eignung der salpetersauren Salze für die Ernährung der Kulturpflanzen hat man es längere Zeit hindurch zu wenig gewürdigt, daß Ammoniumsalze unter verschiedenen Bedingungen mindestens ebenso geeignete Nährstoffe für Phanerogamen darstellen können. Die älteren Versuche von SCHATTENMANN und KUHLMANN (5), welche die günstigste Menge von Ammoniumsalzen in Düngungsversuchen zu bestimmen trachteten, hatten den Faktor der bacteriellen Nitrification noch nicht berücksichtigt, was auch bei der verschiedenen Deutung der Erfolge von Nitratdarreichung und Ammoniakdarreichung in den Arbeiten von SALM-HORSTMAR, BOUSSINGAULT und VILLE ins Gewicht fällt. In den Ruf schlechtere N-Quellen zu sein als Nitrate, kamen die Ammoniumsalze späterhin besonders durch die Erfahrungen von KNOP (6) und anderen Forschern an Wasserkulturen; auch BIRNER und LUCANUS (7) sahen nicht immer den gleichen guten Erfolg bei Ammoniumsalzen. Daß jedoch Ammoniumsalze allein auch bei Wasserkulturen gute Resultate ergeben, haben schon KÜHN und HAMPE (8) gezeigt. Beachtenswert für etwaige schädliche Wirkungen ist es jedenfalls, daß bei Darreichung von Ammoniumsalzen starker Mineralsäuren, wie PANTANELLI und SEVERINI (9) bei sterilen Wasserkulturen zuletzt genauer verfolgten, durch die stärkere Verarbeitung des NH_4-Ions eine Ansäuerung zustande kommt, und umgekehrt bei Darreichung von organischen Ammoniumsalzen, wie Tartrat,

---

GODLEWSKI, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Krakau (1903). Physiol. Störungen durch Fehlen von N-Quellen im Boden: LIPMAN, Phytopathology, *5*, 111 (1915).

1) E. GODLEWSKI, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Krakau (1903), p. 347ff. — 2) G. A. RITTER, Internat. Mitteil. f. Bodenkunde, *2*, 533 (1912). — 3) A. BAUMANN, Landw. Vers.stat., *33*, 247 (1887). — 4) Übersicht: P. EHRENBERG, Mitteil. d. landw. Inst. Breslau, *4*, Heft I/II. Berlin 1907. — 5) KUHLMANN, Compt. rend., *17*, 1118; Ann. Chim. et Phys. (3), *20*, 223 (1847). — 6) W. KNOP, Landw. Vers.stat., *2*, 75 (1860). — 7) BIRNER u. LUCANUS, Ebenda (1866), p. 148. — 8) G. KÜHN u. HAMPE, Ebenda (1867), p. 157, 167. — 9) E. PANTANELLI u. G. SEVERINI, Staz. Sper. Agr. *43*, 449 (1910). — Verwendung von „Ammoniumpermutit" als N-Quelle: D. J. HISSINK, Landw. Vers.stat., *81*, 377 (1913). „Permutite" sind künstliche Zeolithe oder wasserhaltige Erdalkali-Aluminatsilikate, die NH_3 stark adsorbieren. WIEGNER, Journ. Landw. (1913), p. 11. LEMMERMANN, Landw. Jahrb., *45*, 127 (1913).

durch ein rascheres Verschwinden der Anionen die Lösung alkalisch werden kann. Insofern hat man ein Recht, das Ammoniumsulfat als einen „physiologisch sauren Stoff" hinzustellen (1). Von diesem Gesichtspunkt aus sind wohl auch die von PRIANISCHNIKOFF, KABLUKOW und MOROSOW (2) studierten Wirkungen von NH_4-Salzen auf Lupinus luteus und Pisum zu verstehen, die sich in einer Asparaginansammlung äußern, und durch Zusatz von $CaCO_3$ zu beheben sind. So sind die in der Literatur verzeichneten Erfolge mit Ammonium- und Nitratdarreichung nicht immer leicht zu deuten. Bei der eingehenden Prüfung der Sache durch PANTANELLI und SEVERINI (3) stellte es sich so dar, daß im ganzen Ammoniumsalze besser ausgenutzt werden, besonders die organischsauren, sobald man die Aufnahme nicht so rasch vor sich gehen läßt, daß durch rückbleibende Anionen Ansäuerung eintritt. Gerste scheint gegen NH_4-Salze empfindlich zu sein (4). Nitrat lieferte bei Triticum die stärkste Krautproduktion, wurde aber von einigen Ammoniumsalzen im Samenansatz übertroffen. HUTCHINSON und MILLER (5) glaubten bei derselben Pflanze unter den von ihnen gewählten Bedingungen eine Bevorzugung der Nitrate zu erkennen, während Pisum keinen Unterschied zwischen Ammonium und Nitrat machte. Nach PITSCH und VAN LOCKEREN-CAMPAGNE (6) vermögen verschiedene Kulturgewächse in sterilisiertem Boden mit Ammoniumsalzen gut zu gedeihen; desgleichen sah MUNTZ (7) bei Phaseolus, Mais und Cannabis in sterilisiertem Boden unter Darreichung von Ammoniumsulfat gute Entwicklung, und auch GRIFFITHS (8) berichtete über ähnliche Erfahrungen. Doch soll nach PITSCH (9) der Ernteertrag bei Ammoniumdüngung trotz normaler Entwicklung der Pflanzen ein geringerer sein als bei Nitratdarreichung, und PICHARD (10) fand gleichfalls eine solche Überlegenheit der Nitratdarreichung. Möglich ist es, daß die begünstigende Wirkung in verschiedenem Lebensalter nicht gleich ist, und es ist in dieser Richtung auf die Angabe von HEIDEN (11) hinzuweisen, wonach Secale und Lupinus in jugendlichem Alter durch NH_4-Salze leicht geschädigt werden. Für Zea mays fand SOAVE ausgesprochen besseres Gedeihen bei Ammoniumsalzdarreichung (12), und nach NAGAOKA (13) scheinen bei Sumpfreis Nitrate überhaupt nicht so gut zu wirken wie Ammoniumsalze. Auch KELLNER (14) gibt an, daß Sumpfreis in der ersten Entwicklung von NH_4 sehr begünstigt wird, und

1) Vgl. D. PRIANISCHNIKOW. Ber. bot. Ges., *26*, 716 (1908). P. EHRENBERG, Landw. Vers.stat., *69*, 259 (1908). — 2) PRIANISCHNIKOW, ref. Bot. Zentr., *138*, 158; Rev. gén. Bot., *25*, Nr. 289 (1914). Auch SÖDERBAUM, Medd. Centr. Anst. Försöksväs., Nr. 156 (1919). — 3) E. PANTANELLI u. G. SEVERINI, Staz. Sper. Agr., *44*, 873 (1911). — 4) SÖDERBAUM, l. c. u. Kgl. Ak. Handl. Stockholm, *55*, 57 (1916). — 5) H. B. HUTCHINSON u. N. H. J. MILLER, Journ. Agr. Sci., *3*, 179 (1909). — 6) O. PITSCH u. VAN LOCKEREN-CAMPAGNE, Landw. Vers.stat., *34*, 217 (1887). — 7) A. MUNTZ, Compt. rend., *109*, 646 (1889). — 8) A. B. GRIFFITHS, Chem. News, *64*, 147 (1891); Chem. Zentr. (1891), II, 820; D. PRIANISCHNIKOW, Russ. Journ. f. exp. Landwirtsch., *13*, Heft 5 (1912). L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *52*, 194 (1905). SEELHORST u. VOIGT, Journ. Landw., *64*, 23 (1916). ZIELSTORFF, Bl. f. Zuckerrübenbau, *23*, 277 (1916). — 9) O. PITSCH, Landw. Vers.stat., *42*, 1 (1893). — 10) P. PICHARD, Compt. rend., *117*, 125 (1893). Nach W. KRÜGER, Landw. Jahrb., *34*, 761 (1905), ist NH_4 für Kartoffel mindestens gleich gut geeignet wie NO_3. Rübe ist hingegen NO_3-liebend; vgl. ASO, Chem. Zentr. (1906), II, 550. — 11) E. HEIDEN, Nat.forsch. Vers. Cassel (1878), p. 256. — 12) M. SOAVE, Ann. di Botan., *4*, 99 (1906). Ann. Accad. Agric. Torino, *48* (1906); GERLACH u. VOGEL, Zentr. Bakt., II, *14*, 124 (1905). — 13) M. NAGAOKA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *6*, 285 (1904). — 14) O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *30*, 18 (1884). Vgl. auch HARZ, Bot. Zentr., *29*, 223 (1887).

Nitrat stark hemmt, während später Nitrate diese Wirkung nicht besitzen. Zu berücksichtigen wird auch sein, daß die Natronzufuhr mit Natronsalpeter für manche Gewächse nicht gleichgültig sein dürfte (**1**). SCHULOW (**2**) sah gewisse hemmende Effekte durch Ammoniumsulfat nach Darreichung von Ammoniumnitrat verschwinden.

Daß man in Ammoniumsalzkulturen nicht alles in der Pflanze nachweisbare Ammonium als aufgenommenes NH_4 ansehen darf, ist selbstverständlich, da viele Spaltungsprozesse sekundär NH_4 liefern können, und tatsächlich im Stoffwechsel auch fortwährend liefern. In methodischer Hinsicht, in bezug auf Ammoniakbestimmung im Substrate: Wasser und Boden, sei auf die einschlägigen Arbeiten von BOUSSINGAULT und BERTHELOT (**3**) verwiesen, wo die zu beachtenden Einzelheiten näher dargelegt sind. Bezüglich des mikrochemischen Nachweises von NH_4 und die Feststellung der Verbreitung in Pflanzengeweben verweise ich besonders auf die Angaben von WEEVERS (**4**).

Im Anschluß an die Aufnahme von Ammoniumstickstoff muß auch auf die Wirkung des Cyanamides hingewiesen werden, welches in neuerer Zeit als technisches Produkt in Gestalt des Kalkstickstoffes, der aus rohem, mit Kalk und Kohle gemengten Calciumcyanamid besteht, praktische Bedeutung als landwirtschaftliches Düngemittel erlangt hat (**5**). Durch eine große Zahl von Arbeiten (**6**) steht es wohl sicher, daß bei geeignetem Vorgehen der Kalkstickstoff in bezug auf seine Wirkung als Stickstoffnahrung dem Ammoniumsulfat nicht nachsteht. Im Gegensatze zu älteren Pflanzen sind Keimlinge gegen diesen Stoff empfindlich (**7**). Nach INAMURA (**8**) soll ein Zusatz von saurem Doppelsuperphosphat gegen einen bei der Zersetzung etwa auftretenden Überschuß von alkalischen Verbindungen vorteilhaft wirken. Auch als Rübendünger war Kalkstickstoff brauchbar (**9**). In den Gefäßversuchen von WAGNER (**10**) erwies sich allerdings der Kalkstickstoff dem Nitrat und Ammoniumsulfat etwas inferior. Einem von

---

1) Vgl. F. LÖHNIS u. E. BLOBEL, Fühlings Landw. Ztg. (1908), p. 385; PANTANELLI u. SEVERINI, l. c. — **2**) J. SCHULOW, Journ. Opetn. Agron. Petersb., *13*, 207 (1913). Journ. exper. Landw., *13*, 200 (1913). — **3**) BOUSSINGAULT, Agronomie, II, 150; III, 206. BERTHELOT u. ANDRÉ, Ann. Chim. et Phys. (6), *11* (1887). — **4**) TH. WEEVERS, Rec. Trav. bot. Néerl., *13*, 63 (1916). — **5**) Kalkstickstoff: N. CARO, Ztsch. angew. Chem., *23*, 2405 (1910); M. LE BLANC u. M. ESCHMANN, Ztsch. Elektrochem., *17*, 20 (1911); K. KAPPEN, Chem.-Ztg., *35*, 950 (1911); PLUVINAGE, Nature, *81*, 222 (1909); G. BREDIG, Ztsch. Elektrochem. (1907), Nr. 9, p. 69; E. J. PRANKER, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 159 (1913); HILL u. LANDIS, Ebenda, *6*, 20 (1914). A. STUTZER u. HAUPT, Journ. Landw., *63*, 385 (1916). — **6**) E. WEIN, Verh. Nat.forsch. Ges. (1904), II, *1*, 162; K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 47 (1906); A. MUNTZ u. P. NOTTIN, Mon. Sci. (4), *21*, II, 541 (1907); S. UCHIYAMA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta., *1*, 93 (1907); L. ZERBINI, Ann. Uff. Prov. Agr. Bologna, *12*, 83 (1905); E. WEIN, Verh. Nat.forsch. Ges. (1905), II, *1*, 119; B. STEGLICH, Ebenda, 147; R. OTTO, Ebenda, 150; A. STUTZER, Ebenda (1908), II, *1*, 126; Zuckerrohr: C. J. MILO, Med. Proefstat. Java Suik. Ind. (1912), p. 427 u. 601; E. DE KRUYFF, Teysmannia (1908), p. 357. Getreide: S. DE GRAZIA, Staz. sper. agr., *41*, 657 (1908). OSWALD u. WEBER, Landw. Jahrb., *47*, 79 (1914). KRÜGER, ROEMER u. RINGLEBEN, Ber. über Landwirtsch., 1914, Heft 34. Für Moorboden: TACKE u. BRÜNE, Landw. Vers.stat., *83*, 1 (1913). GULLY, Dtsch. landw. Presse, *45*, 371 (1919). — **7**) BARTSCH, Verh. Nat. Ges. (1904), II, *1*, 166. TRNKA u. MYSIK, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *18*, 58 (1915). — **8**) R. INAMURA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 53 (1906). — **9**) F. STROHMER,, Öst.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *35*, 663 (1907). A. AULARD, Bull. Assoc. Chim, Sucr., *24*, 1653 (1907). J. VANHA, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *12*, 785 (1909). — **10**) P. WAGNER, DORSCH, HALS, POPP, Landw. Vers.stat., *66*, 285 (1907).

POLLACCI (1) hergestellten Präparate sollen die alkalischen Wirkungen des gewöhnlichen Kalkstickstoffes nicht zukommen.

Cyanamid polymerisiert sich beim Stehen mit Wasser leicht zu Dicyanamid. Zunächst gibt Calciumcyanamid Ca : N · CN unter dem Einflusse des Wassers unter Abspaltung von Calciumhydroxyd das einbasische Salz $Ca(HN \cdot CN)_2$. Dieses geht unter nochmaliger Abspaltung von Kalk in freies Cyanamid über: $H_2N \cdot CN$. Das Cyanamid gibt dann Dicyandiamid: $NH : C{<}^{NH_2}_{NH \cdot CN}$. Dieser Prozeß muß sich auch im Boden vollziehen. Das Dicyandiamid wurde von PEROTTI (2) für eine unschädliche Substanz erklärt, doch fanden LÖHNIS und MOLL (3) dasselbe von Bacterien nicht angegriffen, und KIONKA, sowie REIS (4) geben Giftwirkung auf Tiere an. Durch Einwirkung von Kohlensäure gibt Cyanamid bzw. Calciumcyanamid das Kalksalz der Cyanamidokohlensäure $CN \cdot N : C{<}^{OH}_{OH}$, welche nach den Untersuchungen von SHUTT und CHARLTON (5) in kleinen Mengen unschädlich ist. Bekannt ist endlich, daß das Cyanamid unter Wasseraufnahme leicht in Harnstoff übergeht: $NC \cdot NH_2 + H_2O = OC{<}^{NH_2}_{NH_2}$. Die Frage, ob diese Ammonisierung des Cyanamides in erster Linie durch Bodenbacterien bedingt ist, muß nach den Ergebnissen einer Reihe von Studien (6) verneint werden; es scheint, als ob Bodenkolloide, Eisenhydroxyd, Manganhydroxyd als Katalysatoren dieser Umsetzung fungieren würden. Sehr gute Effekte hat nach STUTZER besonders Eisenoxyd. Aus diesem Grunde ist es, wie mehrfach hervorgehoben (7), vorteilhaft, nicht gleich nach der Düngung mit Kalkstickstoff die Aussaat zu vollziehen, sondern das Ausstreuen des Düngers zu einer Jahreszeit vorzunehmen, wo viel Feuchtigkeit geboten ist, und eine längere Ruhezeit bevorsteht, wie es im Spätherbst der Fall ist.

Das Dicyandiamid soll von Kulturpflanzen, in genügend starker Verdünnung angewendet, als Stickstoffquelle gut ausnutzbar sein (8).

---

1) E. u. G. POLLACCI, Staz. Sper. Agr., *40*, 580 (1907). — 2) R. PEROTTI, Zentr. Bakt., II, *18*, 50 (1907); *21*, 200 (1908). Dicyandiamid: GRUBE u. NITSCHE, Ztsch. angew. Chem., *27*, 368 (1914). PFEIFFER u. SIMMERMACHER, Landw. Vers.stat., *90*, 415 (1917). DAFERT u. MIKLAUZ, Ztsch. landw. Vers.wes. Deutsch-Österr., *22*, *1* (1919). — 3) F. LÖHNIS u. R. MOLL, Zentr. Bakt., II, *22*, 254 (1908). Auch C. ULPIANI, Gazz. Chim. Ital., *38*, II, 358 (1908). — 4) KIONKA, Fühlings landw. Ztg. (1909), p. 397. FR. REIS, Biochem. Ztsch., *25*, 477 (1910). — 5) FR. T. SHUTT u. H. W. CHARLTON, Chem. News, *94*, 150 (1906). — 6) REIS, l. c. C. ULPIANI, Gazz. Chim. Ital., *40*, I, 613 (1910). Rend. Soc. Chim. Ital. (2), *2*, 84 (1910). STUTZER u. REIS, Fühlings landw. Ztg. (1910), p. 413; H. KAPPEN, Zentr. Bakt., II, *59*, 657 (1910); A. FRANK. Verh. Nat. Ges. (1905), II, *1*, 117; A. STUTZER, Orig. Com. 8th Int. Congr. Appl. Chem., *15*, 301. Über den Zersetzungsvorgang ferner: F. LÖHNIS u. SABASCHNIKOW, Zentr. Bakt., II, *20*, 322 (1908); KAPPEN, Ebenda, *20*, 704 (1908); Landw. Vers.stat., *68*, 301 (1908); Zentr. Bakt., *22*, 281 (1908); E. HASELHOFF, Landw. Vers.stat., *68*, 189 (1908); KAPPEN, Ebenda, *70*, 445 (1909). M. IMMENDORFF, Verh. Nat. Ges. (1908), II, *1* (120). M. POPP, Ebenda, p. 124. R. PEROTTI, Zentr. Bakt., II, *21*, 514 (1908). KAPPEN, Katalyse des Cyanamids: Habil.schrift Jena 1913. WILKOSZEWSKI, Arch. sci. phys. Genève (4), *44*, 165 (1917). — 7) S. DE GRAZIA, Staz. Sper. Agr. Ital., *41*, 115 (1907). R. PEROTTI, Ebenda, *27*, 787 (1904). — 8) Lit. R. PEROTTI, Zentr. Bakt., II, *21*, 200 (1908); *24*, 373 (1909); Staz. Sper. Agr. Ital., *41*, 593 (1908); *42*, 81 (1908); N. CARO u. H. GROSSMANN, Chem.-Ztg., *33*, 734 (1909); R. INOUYE, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 193 (1909); K. ASO, Ebenda, 211; O. LOEW, Chem.-Ztg. (1908), p. 676; (1909), p. 118.

§ 2.

Die Aufnahme salpetersaurer Salze durch die Wurzeln und der Gehalt der Pflanzen an Nitraten.

Boussingault (1) hat zuerst bewiesen, daß Nitrate als alleinige Stickstoffnahrung zur Produktion namhafter Mengen von Pflanzensubstanz ausreichen, und hat auch bereits beobachtet, daß Nitrate ebensogut oder noch besser wirken können wie Ammoniumsalze. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Ville sowie Fürst zu Salm-Horstmar (2). Für die bis zum heutigen Tage außerordentlich bedeutungsvolle landwirtschaftliche Anwendung der Düngung mit Natronsalpeter (3) war die Entdeckung der Salpeterlager in der peruanischen Provinz Tarapaca entscheidend, welche 1821 zuerst bekannt und seit 1831 in größerem Maßstabe ausgenützt worden waren. Den peruanischen Ureinwohnern war trotz ihrer hochentwickelten Landwirtschaft und Düngungsstoffkenntnisse die Anwendung des Natronsalpeters unbekannt geblieben. Boussingault (4), dem wir die ersten eingehenden Nachrichten über die südamerikanischen Salpeterlager verdanken, berichtete, daß bei Mazulipatam die Erde so salpeterreich ist und die Pflanzen (Tabak) sich so sehr mit Nitrat beladen, daß die Blätter ganz weiß werden. Nach Baumé kann das Stengelmark von Helianthus wirklich so reich an Salpeter werden, daß es, auf Kohle gelegt, lebhaft detoniert.

Über die Ursache der günstigen Wirkung von Nitraten als Stickstoffnahrung wurden allerdings früher irrige Ansichten geäußert. Kuhlmann (5), welcher gleichfalls den guten Effekt der Salpeterdarreichung beobachtete, war der Meinung, daß das Nitrat im Boden vorerst in Ammoniumsalz übergeht, welches sodann von den Pflanzen aufgenommen wird. Boussingault zeigte hingegen, daß Gegenwart zersetzlicher organischer Substanzen im Boden für die Wirkung der Nitrate unnötig sei. Sonnenrosen, in geglühtem Sande unter Salpeterdarreichung erzogen, hatten zu Ende des Versuches das 108fache Gewicht der Samen in ihrer Trockensubstanz gebildet, während salpeterfreie Pflanzen nur die 4½fache Vermehrung der Trockensubstanz erfahren hatten. Im Boden wurde die gesamte Nitratmenge, welche die Pflanzen von dem dargebotenen Materiale nicht aufgenommen hatten, mit geringem Verluste wiedergefunden. Helianthus schien für jedes Äquivalent assimilierten Stickstoffes ein Äquivalent Kali mit aufgenommen zu haben (6). Boussingault hielt es deswegen für wahrscheinlich, daß das Nitrat als solches von der Pflanze direkt resorbiert wird. Die günstige Wirkung war übrigens schon vom Beginne der Vegetation an sehr deutlich ausgeprägt. Auch für Lepidium konstatierte Boussingault ähnliche, überaus günstige Ernährungserfolge; er meint von den Nitraten: „ils concourent comme l'ammoniaque, mieux-même que l'ammoniaque à la pro-

---

1) Boussingault, Agronomie, I, 69, 136 (1860). — 2) G. Ville, Rech. expér. sur la végétation (1857); Salm-Horstmar, Versuche u. Resultate über die Nahrung der Pflanzen (1856), p. 26. Vgl. auch J. Sachs, Experim.physiologie (1865), p. 137. — 3) Nach A. Mayer, Agrik. Chemie, 5. Aufl., I, 161, sollen in England schon zur Zeit Karl I. Versuche mit Salpeterdüngung angestellt worden sein. — 4) Boussingault, Agronomie, II, 328. Angaben über frühere landwirtsch. Versuche mit Salpeterdüngung bei Mulder, Chemie d. Ackerkrume, III, 107 (1863). Exzessiver Nitratgehalt in gewissen Böden von Colorado: Headden, Journ. Ind. Eng. Chem., 6. 586 (1914). — 5) F. Kuhlmann, Ann. Chim. et Phys. (3), *20*, 223 (1847). — 6) Vgl. hingegen: G. André, Compt. rend., *156*, 1914 (1913).

duction végétale." Neue Anregung zur Erforschung der Nitratwirkungen gab die Ausbildung der Wasserkulturmethode, welche in der Folge STOHMANN, sowie RAUTENBERG und KÜHN hierzu benützten (1). Auch FITTBOGEN (2) verdanken wir analytische Studien hierüber. Zuletzt hat HELLRIEGEL (3) mit zahlreichen Mitarbeitern sorgfältige Vegetationsversuche in Sandkulturen mit Calciumnitratdüngung angestellt, woraus sich die Wirkungen der steigenden Nitratdarreichung auf die Entwicklung der Gerste mit voller Sicherheit ersehen lassen. Dabei ist es nicht ausgeschlossen, daß sich die Wirkung einer gewissen geringen Nitratgabe, wie Versuche von WOLFF und KREUZHAGE (4) darzutun scheinen, bei der einen Pflanzenspezies als relativ geringfügig darstellt, während dieselbe Gabe bei einer anderen Art bereits bedeutend hervortritt. Wenig bemerkenswerte Momente bieten Versuche von DEMOUSSY (5), die sich mit der Speicherung von Nitrat aus verdünnter Lösung durch die Wurzeln befassen.

Im Boden ist den Pflanzen eine sehr verdünnte Nitratlösung geboten, meist nur wenige Milliontel oder Bruchteile von Milliontel Prozenten der Bodenfeuchtigkeit, so daß ausschließlich ionisiertes Nitrat zur Aufnahme gelangen kann. Die absolute Menge, die zur Resorption gelangt, ist trotzdem nicht gering; PAGENSTECHER und MÜLLER (6) berechneten, daß die zu Bern gefaßten Brunnen der Aar pro Jahr über 6000 Pfund Nitrate zuführen. Der Ackerboden hält Nitrate lange nicht so fest adsorptiv gebunden wie Ammoniak, und es kann daher sehr viel Nitrat durch Auslaugen des Bodens verloren gehen. Die geringe Menge von Salpetersäure, welche aus der Atmosphäre stammt und durch Niederschläge den Pflanzen zugeführt werden kann, spielt keine biologische Rolle.

Kalksalpeter wurde von STUTZER eher etwas wirksamer gefunden als Natronsalpeter (7). Für die Rübe ist aber nach STOKLASA und nach FALLADA (8) Natronsalpeter besser als Calciumnitrat. Hingegen wurde für Kartoffeln Chilisalpeter weniger wirksam gefunden als Ammoniumsulfat (9). ASO (10) sah bei Colocasia antiquorum durch Natronsalpeter hohen Knollenertrag bedingt, während er für Hochlandreis und Sesamum nicht wirksam war. Bei jungen Laubholzpflanzen (Eiche, Buche) ist Kalksalpeter dem Ammonsulfat vorzuziehen (11). Andere Versuche über die Wirkung der Darreichung von Nitraten auf die Waldbäume stammen von VATER (12). Begießen mit 0,02 % Kaliumnitrat hatte entschieden fördernden Einfluß; doch bereits Darreichung von 0,1 % hatte bei Pinus

---

1) STOHMANN, Hennebergs Journ. Landw. (1864), p. 65. RAUTENBERG u. G. KÜHN, Ebenda, 107. — 2) J. FITTBOGEN, Landw. Jahrb. (1874), p. 146. — 3) H. HELLRIEGEL, WILFARTH, WIMMER, PETERS, FRANKE, Ztsch. Rüb.zuck.Ind. (1897), p. 141. — 4) E. WOLFF u. C. KREUZHAGE, Landw. Jahrb., *16*, 659 (1887). — 5) DEMOUSSY, Compt. rend., *118*, 79 (1894); *119*, 868 (1895). — 6) PAGENSTECHER u. MÜLLER, zit. in KNOP, Kreislauf der Stoffe, I, 109. — 7) A. STUTZER, Journ. f. Landw., *55*, 69 (1907). Auch KRÜGER u. ROEMER, Ber. über Landw., 1914, Heft 34. Mitteil. Vers.stat. Bernburg 1914, p. 3. HASELHOFF, Landw. Vers.stat., *84*, 1 (1914). — 8) J. STOKLASA, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *12*, 627 (1909). Vgl. auch J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *33*, 535 (1909). OSWALD u. WEBER, Landw. Jahrb., *47*, 79 (1914). FALLADA u. GREISENEGGER, Öst.Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *45*, 457 (1916). — 9) A. ZASURHIN (1914), ref. Bot. Centr., *135*, 304. — 10) K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 75 (1906). Über Natronsalpeter auch B. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *79*—*80*, 431 (1913). A. D. HALL, The Book of the Rothamsted Exp. London 1905. Alkalinitrate: F. PLATE, Atti Acc. Linc. Roma (5), *22*, II, 598 (1913). Über $NaNO_3$-Düngung ferner: MASCHHAUPT, Versl. van Landbouwk. Onderz. Rijkslandb. proefstat. 1918. — 11) A. MÖLLER u. ALBERT, Ztsch. Forst- u. Jagdwes., *48*, 463 (1916). — 12) H. VATER, Tharander forstl. Jahrb., *59*, 261 (1909).

und Picea schädliche Nebenwirkungen. Hier war Ammoniumsalz besser, während sich die Rotbuche als Nitrat bevorzugende Pflanze ergab. Bei der Keimung von Avena war in Versuchen von PLATE (1) von Aluminiumnitrat die beste Wirkung zu sehen. Schwermetallnitrate wirkten teils tödlich (U), teils stimulierend (Mn, Cr), teils waren sie wirkungslos (Fe, Ni, Co).

Das mitunter sehr reichliche Vorkommen von KNO_3 in Pflanzen wird schon von älteren Autoren, wie BRACONNOT (2), erwähnt und auch die weite Verbreitung des Salpetervorkommens bei Phanerogamen findet sich z. B. bei DECANDOLLE (3) erläutert. In neuerer Zeit hat MOLISCH (4) unter Zuhilfenahme der Diphenylamin-H_2SO_4-Reaktion und der Brucinprobe die Verbreitung der Nitrate und ihre Verteilungsgesetze studiert. Die Fehlerquellen, welche bei der Diphenylaminreaktion durch die Gegenwart anderer oxydabler Stoffe beachtet werden müssen, finden sich ausführlich bei SCHIMPER (5) berücksichtigt, welcher zeigte, daß sogar verholzte Zellwände die Reaktion hemmen, so daß man das von MOLISCH bei holzigen Zweigen beobachtete Ausbleiben der Diphenylaminprobe nicht auf Abwesenheit von Nitraten beziehen kann. Die von MOLISCH geäußerte Ansicht, daß Holzpflanzen wegen ihrer tiefergehenden Wurzeln nur Ammoniumsalze und keine Nitrate aufnehmen dürften, ist also gegenstandslos. Sehr viel Nitrat ist nach Befunden von MOLISCH und von LUTZ (6) in Chenopodiaceen, Amarantaceen, Urticaceen, die KNO_3-reiche Lokalitäten bewohnen, aber auch bei Boragaceen, zugegen. Nach BONTIN (7) enthält Amaranthus ruber 16 %, Am. atropurpureus bis 22,77 % der Trockensubstanz an Nitrat. Bei Solandra grandiflora steigt nach PERTIE (8) der Nitratgehalt bis über 2 % der Trockensubstanz. Sambucusarten sind gleichfalls sehr nitratreich. Übrigens fehlen Nitrate auch den Farnen, Moosen und Hutpilzen nicht. Sehr eingehende Angaben über Vorkommen von Nitrat hat SERNO (9) geliefert. Ferner haben BERTHELOTS (10) quantitativ analytische Untersuchungen Belege zum allgemeinen Vorkommen der Nitrate geliefert, denen folgende Zahlen, auf 1000 Teile Trockensubstanz bezogen, entnommen seien:

Hylocomium triquetrum . . .	0,055	Prunus domestica, junger Sproß	0,12
Scirpus lacustris	0,049	Solanum tuberosum	15,4
Triticum sativum	27,8	Bryonia dioica	33,3
Avena sativa	9,5	Brassica	2,8
Papaver Rhoeas	31,6	Trifolium pratense	Spuren

Die Zahlen für dieselbe Pflanze schwankten aber in Untersuchungen von derselben Lokalität zu verschiedenen Zeiten manchmal bedeutend. Die Zuckerrübe enthält nach BARRAL (11) bis 13,9 % der Trockensubstanz an KNO_3 (englische Mammuthrübe). NEDOKUTSCHAEFF (12) machte die Wahrnehmung, daß Keimlinge von typischen Salpeterpflanzen, wie Helianthus und Cucurbita, in Wasserkultur ihre maximale Speicherung an

1) F. PLATE, Accad. Lincei (5), *23*, I, 161 (1914); ebenda, 506. — 2) H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *35*, 260 (1827). — 3) DECANDOLLE, Physiologie, I, 383. — 4) H. MOLISCH, Ber. bot. Ges., I, 150 (1883); Sitz.ber. Wien. Ak. (1887); *95*, 121. Über die Diphenylaminprobe auch A. WAGNER, Ztsch. analyt. Chem., *20*, 329. — 5) A. F. W. SCHIMPER, Flora (1890), p. 217. — 6) LUTZ, Compt. rend. Congr. Soc. Sav. Paris (1908), p. 156. — 7) A. BONTIN, Compt. rend., *76*, 413 (1873); *78*, 261 (1874). Auch BROSSET, Ebenda, *79*, 1274. — 8) J. M. PETRIE, Linn. Soc. N. S. Wales (1911), p. 1. — 9) SERNO, Landw. Jahrb., *18*, 877 (1890). — 10) BERTHELOT, Compt. rend., *98*, 1506; *99* (1884). — 11) J. A. BARRAL, Ebenda, *87*, 1084 (1878). — 12) N. NEDOKUTSCHAEFF, Ber. bot. Ges., *21*, 431 (1903).

Nitrat-N nur bei Darreichung von KNO_3 aufweisen. Voraussichtlich werden aber noch andere Ernährungseinflüsse die Nitratspeicherung beherrschen. Erwähnt sei, daß ZACHARIAS (1) angab, daß Nitrat in den Siebröhren von Cucurbita nachweisbar sei.

Soviel derzeit bekannt, wird Salpetersäure im Organismus der höheren Pflanzen unter keinen Umständen gebildet. Angaben über Entstehung von Nitraten in Pflanzen tauchten seit LIEBIG (2) in der Literatur immer wieder auf. So hatten BERTHELOT und ANDRÉ (3) Nitratbildung bei Phanerogamen angenommen, ebenso KREUSLER (4) und später BELZUNG (5). Doch sind die von diesen Autoren beigebrachten Wahrscheinlichkeitsgründe durchaus nicht überzeugend gewesen, und einige Autoren haben denn auch später ihre Meinung in dieser Hinsicht geändert (6). Gründe gegen die Nitratentstehung bei höheren Pflanzen und eine Widerlegung der oben erwähnten Arbeiten haben besonders MOLISCH, FRANK und SCHULZE beigebracht (7). Daß aber wenigstens Oxydation von NH_4 zu Nitrit unter besonderen Verhältnissen durch Pflanzensubstanz vollzogen werden kann, scheinen Versuche von MAZÉ (8) zu zeigen. Bei Mais, Pisum und Vicia soll diese Oxydation zwar nicht bei gewöhnlicher Temperatur, aber bei 56—57° erfolgen; um eine normale Lebenserscheinung handelt es sich somit auch hier nicht.

Die quantitative Verteilung der Nitrate im Pflanzenorganismus hängt von vielen Faktoren ab, unter welchen der lokale Verbrauch zur Eiweißsynthese einer der wichtigsten ist, und man darf nur mit verschieden großer Wahrscheinlichkeit aus dem konstanten Vorkommen geringerer Nitratmengen in gewissen Organen oder Teilen von solchen auf eine raschere Verarbeitung der Nitrate daselbst schließen. Daß in den Wurzeln selbst Nitrate zur Eiweißsynthese verbraucht werden, scheint aus den Erfahrungen von ISHIZUKA (9) hervorzugehen, welche wenigstens für manche Objekte nach mehrwöchentlicher Aufbewahrung Verschwinden von Nitraten und Eiweißneubildung in erheblichem Maße zeigten; doch war die Eiweißneubildung viel reichlicher als dem verschwundenen Nitrat entsprach. In den Laubblättern wurde schon von SOROKIN, SCHLOESING, SUTTER-ALWENS ein relativ geringer Gehalt an Nitrat gefunden (10), und ähnliches von FRÜHLING (11) konstatiert. Meist nimmt in krautartigen Stengeln die Nitratmenge nach oben hin allmählich ab (MOLISCH, MONTEVERDE (12); in den Blättern enthielt die Stielbasis am reichlichsten Nitrate, im Blattparenchym pflegen sich nur Spuren zu finden; in den Blüten wurde nur bei sehr reichlichem Salpetergehalte der Pflanze Nitrat gefunden. Manchen älteren, an der Hand der mit ungenügender Kenntnis der Fehlerquellen verwendeten

---

1) E. ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1884), p. 65. — 2) LIEBIG, Chemie und ihre Anwendung (1842), p. 75. Später drückte sich LIEBIG vorsichtiger aus. — 3) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *99*, 355, 403, 428, 683; *110*, 109 (1884). — 4) U. KREUSLER, Landw. Jahrb. (1886), p. 309. — 5) E. BELZUNG, Journ. de Botan. (1893), p. 87; Ann. Sci. Nat. (7), *15*, 249 (1892). — 6) Vgl. KREUSLER, Ber. chem. Ges., *20*, 999 (1887); SCHULZE, Ebenda, p. 1500. — 7) A. B. FRANK, Ber. bot. Ges., *5*, 472 (1887); E. SCHULZE, Ztsch. physiol. Chem., *22*, 82 (1896). — 8) P. MAZÉ, Compt. rend. Soc. Biol., *78*, 98 (1915). — 9) T. ISHIZUKA, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *2*, 471 (1896). — 10) W. SOROKIN, Justs Jahresber. (1875), p. 871; SCHLOESING, Ann. Chim. et Phys. (3), *40*, 479. SUTTER-ALWENS, Ökonom. Fortschr. v. ZÖLLER, *1*, 97 (1867). — 11) R. FRÜHLING, Landw. Vers.stat., *9*, 9 u. 157. HOSAEUS, Jahresber. Agrik. Chem. (1865), p. 87; FRÜHLING u. GROUWEN, Landw. Vers.stat., *8*, 471; SCHULZE, Ebenda, *9*, 444; WULFERT, Ebenda, *12*, 164; EMMERLING, Ebenda, *24*, 136; BERTHELOT u. ANDRÉ, l. c. — 12) MONTEVERDE, Justs ahresber. (1883), I, 57.

Diphenylaminprobe angestellten Untersuchungen sind nur mit Vorsicht aufzunehmen, und es hält schwer, aus den von FRANK (1) gemachten Befunden, daß die Diphenylaminreaktion in den Wurzelspitzen fehlt, aber in der Haarregion der Wurzeln, sowie von da aufwärts in den Epidermis- und Rindenzellen stark zu erzielen ist, einen bindenden Schluß zu ziehen. Für den negativen Ausfall der Diphenylaminprobe in verholzten Zweigen führt SCHIMPER die Tatsache an, daß künstlich mit Salpeterlösung injizierte Holzstückchen die Reaktion gleichfalls nicht geben. Deshalb ist der von FRANK gezogene Schluß, daß bei salpeteramen Pflanzen die Nitrate bereits in der Wurzel assimiliert werden, und gar nicht in die Blätter gelangen, als unbewiesen anzusehen. SCHIMPER (2) verdankt man die Kenntnis einer Reihe interessanter Tatsachen, welche sich zugunsten der Meinung, daß sich eine besonders lebhafte Nitratzersetzung in belichteten Laubblättern entfalte, verwenden lassen. Auch an abgeschnittenen, in Wasser stehenden Blättern, welche im Mesophyll bis in die kleinsten Nerven hinein ursprünglich starke Nitratreaktion gaben, ließ sich nach Verlauf mehrerer Tage feststellen, daß fast das gesamte Nitrat verschwunden war. Der Grad der Besonnung war von sehr merklichem Einflusse auf das Verschwinden von Nitrat in Pelargoniumblättern (Topfexemplare); in den weißen Stellen panachierter Blätter sowohl, wie in den fast chlorophyllfreien Tradescantia-Luftwurzeln blieb die Nitratreaktion auch nach mehrtägiger Einwirkung intensiven Sonnenlichtes ohne merkliche Veränderung. Übrigens sind nach SCHIMPER Schattenblätter stets nitratreicher als Sonnenblätter. Wendet man Calciumnitrat als Nährstoff an, so kann man den Prozeß der Nitratverarbeitung sehr schön, wie SCHIMPER zeigte, durch die Ablagerung des oxalsauren Kalkes kontrollieren.

In methodischer Hinsicht sei bezüglich des quantitativen Nachweises der Salpetersäure in Pflanzen bemerkt, daß die bei Wasseruntersuchungen sonst verwendbare Indigotinmethode (BOUSSINGAULT) (3) nur höchst unsichere und schwankende Werte liefert. Die verläßlichste Bestimmungsmethode ist die von SCHLOESING (4) zur Nitratbestimmung in Tabakblättern ausgearbeitete Methode der Reduktion zu NO durch Eisenchlorür in salzsaurer Lösung, deren eingehende Beschreibung sich in den analytischen Handbüchern (5) findet, und die derzeit besonders in der durch WAGNER (6) eingeführten Modifikation des Apparates beliebt ist. In der Wasseranalyse wird die sehr einfache und praktische Modifikation nach F. SCHULZE und TIEMANN angewendet (7). Sodann haben sich einige „Ammoniakmethoden" durch ihre schnelle Ausführbarkeit und Sicherheit als vorteilhaft erwiesen. Man reduziert in schwefelsaurer oder alkalischer Lösung mit Zink oder Eisenstaub. Hier ist die Methode von ULSCH zu

---

1) FRANK, Ber. bot. Ges., *5*, 472 (1887). Zur Kritik der Diphenylaminprobe: ELLRAM, Chem. Zentr. (1896), II, 99. P. SOLTSIEN, Pharm. Ztg., *51*, 765 (1906). O. RICHTER, Ztsch. wiss. Mikr., *22*, 194 (1905). — Farbenreaktionen mit Arbutin und Berberin nur mit freier HNO_3: C. REICHARD, Chem.-Ztg., *30*, 790 (1906). — Über die sehr gute Dienste leistende Fällung mit Nitron: R. KLEIN, Beih. bot. Zentr., *30*, I, 141 (1913). H. MOLISCH, Mikrochemie d. Pflanzen. Jena 1913, p. 82. — 2) A. F. SCHIMPER, Flora (1890). — 3) BOUSSINGAULT, Agronomie, II. Vgl. auch FRESENIUS, Quantit. Analyse, *2*, 157. — 4) SCHLOESING, Ann. Chim. et Phys. (3), *40*, 479; Journ. prakt. Chem., *62*, 142. — 5) FRESENIUS, l. c. I, 522. Nachprüfungen: FRESENIUS, Ztsch. analyt. Chem., *1*, 39; R. FRÜHLING u. H. GROUVEN, Landw. Vers.stat., *9*, 14, 150; E. SCHULZE, Ztsch. analyt. Chem., *6*, 384. — 6) P. WAGNER, Chem.-Ztg. (1884), p. 651. Ztsch. analyt. Chem., *23*, 559. FRESENIUS, l. c., II, 709. — 7) Beschrieben von H. WULFERT, Ztsch. analyt. Chem., *9*, 400.

nennen (1). Um die KJELDAHLsche Verbrennungsmethode für Nitrate anwendbar zu machen, haben JODLBAUER und FÖRSTER (2) einen Zusatz von Phenolschwefelsäure, Benzoesäure oder Salicylsäure, in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, zum Aufschließungsgemisch angegeben. Es wäre auch auf die Arbeit von PFYL (3) über Nitratbestimmung in Gegenwart organischer Stoffe hinzuweisen. Endlich wurde als Wägungsmethode die Fällung der Salpetersäure mit Nitron oder Diphenylen-anilodihydro-Triazol durch GUTBIER (4) empfohlen, wobei man unter der Voraussetzung, daß kein Jodid zugegen ist, sehr gute Erfolge erzielt.

Aufnahme kleiner Mengen von Nitrit aus dem Boden wäre unter bestimmten Bedingungen denkbar. Die Stickstoffversorgung auf diesem Wege ist jedoch wegen der mehrfach hervorgehobenen schädlichen Wirkungen der Nitrite ausgeschlossen. In Düngungsversuchen mit Natriumnitrit sah ZIELSTORFF (5) nur sehr geringe Wirkungen.

§ 3.

Resorption organischer Stickstoffverbindungen durch Phanerogamenwurzeln.

Daß die theoretische Möglichkeit, verschiedene organische Stickstoffverbindungen durch das Wurzelsystem zur Aufnahme bringen zu lassen und bei geeigneter Auswahl der dargereichten Verbindungen Eiweißsynthese auf Kosten dieser Stoffe zu veranlassen, realisierbar ist, wurde schon durch eine Reihe älterer Erfahrungen gezeigt. HAMPE (6), sowie CAMERON (7) hatten für Harnstoff die Möglichkeit einer Resorption und Verarbeitung durch die Wurzeln höherer Pflanzen erwiesen. KNOP und WOLF (8) fanden, daß bei Gramineen in Wasserkultur Glykokoll, Tyrosin, Leucin zur Eiweißbildung führen, während Nitrobenzoesäure, Pikrinsäure und Anthranilsäure indifferent waren, und Coffein, Ferro- und Ferricyankalium, sowie Thiosinamin giftig wirkten. Mehr indifferent waren auch Morphin, Chinin, Cinchonin und Hippursäure. BENTE (9) sah, daß Maiswurzeln Acetamid und Asparagin verarbeiten konnten. VILLE (10) berichtete über die Möglichkeit einer Aufnahme und Verarbeitung von Alkylaminen. In allen diesen älteren Versuchen war jedoch die Ansiedelung und sekundäre Wirkung von Bakterien in der Nährlösung nicht berücksichtigt worden. Die Versuche von VOGEL (11), nach denen Harnsäure und Guanin von den Wurzeln nicht aufgenommen werden sollen, hatten wohl wie die früher erwähnten Experimente unter der Mitwirkung von Bakterien zu leiden. BAESSLER (12) suchte diese Fehlerquelle, anscheinend mit Glück, dadurch zu umgehen, daß er die Maispflanzen, mit denen er arbeitete, in stickstoffreier Nährlösung zog und sie täglich nur

1) K. ULSCH, Chem. Zentr. (1890), II, 926. — 2) M. JODLBAUER, Landw. Vers.stat., *35*, 447 (1888). O. FÖRSTER, Chem.-Ztg., *13*, 229 (1889); *14*, 1673, 1690 (1890). — 3) B. PFYL, Ztsch. Unters. Nahr. Gen.mittel, *10*, 101 (1905). Bestimm. von Nitrat u. Nitrit auch J. MEISENHEIMER u. HEIM, Ber. chem. Ges., *38*, 3834 (1905). — 4) GUTBIER, Ztsch. angew. Chem. (1905), p. 495. — 5) W. ZIELSTORFF, Bl. Zuckerrübenbau, *23*, 277 (1916). — 6) HAMPE, Landw. Vers.stat., *7*, 308; *8*, 225; *9*, 49. — 7) CAMERON, Ebenda, *8*, 235. — 8) W. KNOP u. W. WOLF, Ebenda, *7*, 463 (1865); KNOP, Kreislauf der Stoffe, p. 618. — 9) F. BENTE, Journ. f. Landw. (1874), p. 113. — 10) G. VILLE, Biedermanns Zentr. Agr. Chem., *8*, 379 (1875). — 11) A. VOGEL, Abh. Bay. Ak., II. Kl., *10*, III. Über Calciumcyanamid: R. PEROTTI, Chem. Zentr. (1905), I, 117. R. OTTO, Ebenda. — 12) P. BAESSLER, Landw. Vers.stat., *33*, 231 (1886).

für einige Stunden in die Asparaginlösung einsetzte. Unter solchen Umständen konnte Stickstoffgewinn und Eiweißvermehrung auf Kosten des dargereichten Asparagins sehr deutlich festgestellt werden.

Große Sorgfalt auf Vermeidung von Bakterieninfektion wurde in den ausgedehnten Untersuchungen von LUTZ (1) über die Aufnahme von Alkylaminen und anderen N-Verbindungen durch Cucurbita, Helianthus, Zea u. a. Phanerogamen verwendet, so daß einwandfrei sichergestellt werden konnte, daß eine Reihe von Aminen: Methylamin, Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Amylamin ohne Überführung in Ammoniak und ohne Eingreifen von Nitrifikationsmikroben aufgenommen und verarbeitet werden. Glykolamin, Betain, Tetramethyl- und Tetraäthylammonium, Allyl- und Benzylamin, sowie Pyridin wurden nicht verbraucht. Allerdings erhielt MOLLIARD (2) bei Rhaphanus sativus mit vielen der erwähnten Amine nur negative Nährerfolge. Hinsichtlich der Aminosäuren Leucin und Tyrosin haben spätere Versuche von LUTZ (3) sowie von SCHULZE (4) bestätigt, daß Verarbeitung derselben stattfindet. HUTCHINSON und MILLER (5) sahen gute Erfolge bei der Verabreichung von Acetamid, Harnstoff, Barbitursäure und Alloxan; mäßig gute bei Glycin, Alanin, Guanidin, Oxamid, Natriumasparagat; zweifelhafte bei Trimethylamin und Hexamethylentetramin (6), negative bei Nitrilen, wobei Erfahrungen von LUTZ Bestätigung fanden (7), und bei Hydroxylamin. Positive Ernährungserfolge mit Aminosäuren, wie Asparaginsäure, Glykokoll, Leucin, erzielte MOLLIARD (8) auch bei Rhaphanus, wogegen er auffallenderweise bei Tyrosin- und Alanindarreichung schädliche Wirkungen beobachtete. Asparagin, ohne Zucker dargereicht, war ebenfalls geeignet, doch war die Nährwirkung bei gleichzeitiger Zuckerverabfolgung stärker. Manche der in voranstehendem erwähnten Widersprüche werden sich durch Eliminierung bisher nicht erkannter sekundärer Einflüsse beseitigen lassen, und man darf voraussetzen, daß die ernährungsphysiologischen Erfahrungen an Pilzen im wesentlichen hier wiederzuerwarten sind. Erwähnt seien noch die Versuche von LEFÈVRE (9) über die Kultur von Blütenpflanzen in kohlensäurefreier Luft unter Darreichung von Amiden. Ohne Licht war ein Gedeihen der Pflanzen nicht zu erreichen. Daß die Kohlensäure auf diese Art nicht ersetzt werden kann, hat auch GRAFE (10) bestätigt, der außerdem schädliche Wirkung bei einigen Aminosäuren beobachtete. Unverwendbar erwies sich in Versuchen von HAMLIN (11) an Zea und Phaseolus Glucosamin zur Stickstoffversorgung. Guanidin war in KAWAKITAS Versuchen (12) für Phanerogamen schädlich, Biuret wirkte

---

1) LUTZ, Ann. Sci. Nat. (7), *7*, 1 (1899); Bull. Soc. Bot., *52*, 194 (1905). — 2) M. MOLLIARD, Compt. rend., *149*, 685 (1909); *153*, 958 (1911). — 3) L. LUTZ, Bull. Soc. Bot., *52*, 95 (1905). Compt. rend., *140*, 380 (1905). — 4) E. SCHULZE, Landw. Vers., *56*, 293, 97 (1902). G. PETROW, Ann. Inst. agron. Moscoue, *19*, 163 (1913). — 5) H. B. HUTCHINSON u. N. H. J. MILLER, Zentr. Bakt., II, *30*, 513 (1911). Zusammenstellung einschläg. Erfahrungen bei BOKORNY, Arch. f. Anat. u. Physiol., 1916, p. 255. — 6) Über die Möglichkeit einer Ausnutzung von Hexamethylentetramin im Boden vgl. TEREG, Flora, *110*, 270 (1918). — 7) Blausäure: J. COTTE, Compt. rend. Soc. Biol., *77*, 185 (1914). — 8) M. MOLLIARD, Bull. Soc. Bot., *10*, 541 (1910); *56*, 534 (1909). Glykokoll: DACHNOWSKI u. GORMLEY, Amer. Journ. of Bot. (1914), *1*; SCHREINER u. SKINNER, Bot. Gaz., *59*, 445 (1915). — 9) J. LEFÈVRE, Compt. rend., 17. Juli, 20. Nov. u. 11. Dez. 1905; Assoc. Franc. Av. Sci. (1909), p. 542. Rev. gén. Bot., *18*, 145 (1906). Compt. rend., *147*, 935 (1908). — 10) V. GRAFE, Sitz.ber. Wien. Ak., *118*, I, 1135 (1909). — 11) M. L. HAMLIN, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1046 (1913). — 12) J. KAWAKITA, Bull. Agr. Coll. Tokyo. *6*, 181 (1904). Harnstoff u. Harnsäure vorteilhaft nach A. THOMSON, Sitz.ber. nat.forsch. Ges. Dorpat. (1899), p. 307.

etwas weniger giftig. Harnstoff ist. wie viele Versuche gezeigt haben, ein gutes Mittel zur Stickstoffversorgung höherer Pflanzen (1).

Inwieweit native Eiweißstoffe durch Wurzeln resorbierbar sind, wurde noch wenig untersucht. Nach ROUDSKY (2) soll es aber möglich sein, die Stickstoffaufnahme von Maispflanzen in steriler Kultur auf Pferdeblutserum zu beobachten.

Von den sonstigen Angaben über Resorption differenter Stickstoffverbindungen durch Wurzeln sei auf die Versuche von BENEDICENTI und DE TONI (3) über Aufnahme von p-Aminobenzoesäure hingewiesen und eine Reihe von Arbeiten, die sich auf die Resorption von Alkaloiden durch Wurzeln beziehen. HECKEL (4) wollte die Samenalkaloide von Cola, Datura, Strychnos und Physostigma sogar als Reservestoffe hinstellen, eine Meinung, die nicht begründet ist, wiewohl verschiedene Pflanzenbasen als relativ unschädlich für die eigene Pflanzenspezies, und auch andere Arten angesehen werden müssen. So fand MARCACCI (5), daß Atropin und Morphin für Pisum- und Phaseoluskeimlinge wenig schädlich sind, mehr das Strychnin, Veratrin, Cinchonin, Chinin. Cocain hemmte die Keimung der Kresse in Versuchen von CHARPENTIER (6) bei 0,3%, doch tötete auch 5% salzsaures Cocain die Pflänzchen noch nicht ab. Ähnliche Resultate erhielten DE TONI und MACH (7) hinsichtlich der Wirkung von Nicotin und Solanin auf die Keimlinge von Nicotiana. CIAMICIAN und RAVENNA (8) konnten bei Verfütterung von Pyridin und Piperidin an Hyacinthus und Zea kein Resultat beobachten; hingegen war bei Nicotiana und Datura eine Vermehrung des Alkaloidgehaltes nachweisbar.

Von Sulfocyanürdüngung beobachtete PEROTTI (9) erst bei höheren Konzentrationen schädliche Wirkungen. Dieses rhodanidhaltige Düngemittel zersetzt sich im Boden rasch.

Wiederholt ist die Frage aufgeworfen worden, ob die Wurzeln der chlorophyllführenden Phanerogamen unter natürlichen Verhältnissen stickstoffhaltige organische Bodensubstanzen ausnutzen. Gegenwärtig besitzt man davon Kenntnis, daß im Boden die verschiedensten Aminosäuren, Purinbasen usw. vorkommen. So hat JODIDI (10) darauf aufmerksam gemacht, daß Torfboden kein Nitrat, auch wenig Ammoniak-N, aber viel Monaminosäuren-N enthält. LATHROP (11) stellte Guanin aus Boden dar, und besonders SCHREINER und SKINNER (12) haben auf die Gegenwart

---

1) TH. BOKORNY, Pflüg. Arch., *172*, 466 (1918); MITSCHERLICH, Journ. Landwirtsch., *56*, 187 (1918). — 2) D. ROUDSKY, Soc. Biol., *75*, 276 (1913). PEMBER u. HARTWELL, Journ. Jnd. Eng. Chem., *8*, 246 (1916). — 3) A. BENEDICENTI u. G. B. DE TONI, Giornale della Acc. med. Torino (1901). — 4) E. HECKEL, Compt. rend., *110*, 88 (1890). — 5) A. MARCACCI, Ber. chem. Ges., *21*, Ref. p. 306. — 6) A. CHARPENTIER, Soc. Biol. (1885). — 7) DE TONI u. P. MACH, Sopra l'influenza esercitata dalla Nicotina etc., Venezia 1893. Atti Ist. Veneto Sci. (7), *4*. — 8) G. CIAMICIAN u. C. RAVENNA, Arch. di Fis., *9*, 504 (1911). — 9) R. PEROTTI, Staz. Sper. Agr., *39*, 193 (1906). — 10) L. JODIDI, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 396 (1910). Landw. Vers.stat., *85*, 359 (1914). — 11) E. C. LATHROP, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 1260 (1912). Journ. Franklin Inst. 183, Nr. 3. Chem. News, *115*, 220 (1917). Nucleinbasen: SCHREINER u. SKINNER, Plant. World, *16*, 45 (1913). BOTTOMLEY, Proc. Roy. Soc., B, *90*, 39 (1917). — 12) J. J. SKINNER, Bot. Gaz., *54*, 152 (1912); O. SCHREINER u. SKINNER, U. S. Dept. Agric. Bull., Nr. 87 (1912); Bull. Torr. Botan. Club, *39*, 535 (1912). SKINNER, Orig. Comm. 8th Int. Congr. Appl. Chem., *15*, 253 (1912). SKINNER u. J. H. BEATTLE, Bull. Torrey Bot. Club, *39*, 429 (1912). SCHREINER u. SKINNER, U. S. Dep. Agr. Bur. of Soils Bull., *87*, 1 (1912). Aminosäure-N im Boden: POTTER u. SNYDER, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 76 (1915); Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 1049 (1915). Journ. Agr. Research., *6*, 61 (1916). — Isolierung organ. Bodenbestandteile: THOMAS, Biochem. Bull., *3*, 210 (1914).

verschiedener Monamino- und Diaminosäuren im Boden aufmerksam gemacht. POUGET und CHOUCHAK (1) wiesen nach, daß die organischen Verbindungen des Bodens, ohne vorher eine Nitrification zu erfahren, resorbiert werden. SKINNER wies auf die günstige Wirkung des Kreatinins und Kreatins bei Triticum hin, und SCHREINER und SKINNER fanden die meisten Aminosäuren und Purinbasen gut verwendbar für die höheren Pflanzen. Schädlich jedoch war Guanidin (2), und zwar um so mehr, je mehr von Nitrat zugegen war. Asparagin schien eher die schädlichen Wirkungen des Guanidins zu schwächen. Asparagin vermochte Nitrate in der Wirkung völlig zu ersetzen. Behandlung des Bodens durch Dämpfung hatte aufschließenden Effekt (3). Die Aufnahme von stickstoffhaltigen Huminstoffen aus dem Boden durch Phanerogamenwurzeln ist noch nicht klargestellt. Aus einigen Versuchen von MOLISCH (4) zu schließen, ist aber eine oxydierende Wirkung der Wurzelausscheidungen auf Humusstoffe möglich, und auch NIKITINSKY (5) verhält sich zur Annahme einer Assimilation von solchen Stoffen durch Phanerogamenwurzeln nicht ablehnend. Für Pilze und Bacterien kann man sich bestimmter äußern, nachdem REINITZER (6) und NIKITINSKY gefunden haben, daß der Ammoniakstickstoff der Huminsäuren von Penicillium assimiliert wird. Dem letzteren Autor zufolge können sich auch verschiedene Bodenbacterien mit Humin-N versorgen. Kohlenstoff und Stickstoff zugleich können aber alle diese Organismen nach den übereinstimmenden Berichten der beiden genannten Autoren aus Huminstoffen nicht beziehen. Aus manchen der Praxis entstammenden Beobachtungen über Aufnahme organischer Stickstoffverbindungen aus dem Bodensubstrate, wie aus der angeblich günstigen Wirkung des Durchwucherns von Hornspänen auf Wurzeln (7) läßt sich ein exakter Schluß kaum ableiten. Die Adsorptionsvorgänge bei der Aufnahme von verschiedenen Stickstoffverbindungen durch Wurzeln finden sich bei CHOUCHAK (8) behandelt, wo auch der Einfluß von Salzen auf diesen Prozeß berücksichtigt wird.

Siebenundvierzigstes Kapitel: Die Resorption stickstoffhaltiger Substanzen durch die Blätter der tierfangenden Pflanzen (Carnivoren).

Die Hauptbedeutung des Tierfanges bei den zu dieser Tätigkeit ausgerüsteten Pflanzen besteht, wie man wohl als festgestellt annehmen kann, in der Gewinnung stickstoffhaltiger Materialien, da es sich durchwegs um kräftig Kohlensäure assimilierende Pflanzen handelt. Über den

1) POUGET u. CHOUCHAK, Ann. Sci. Agr., *30*, 281 (1913). CHOUCHAK, Compt. rend., *156*, 1784 (1913). — 2) Verwertung von Guanidinnitrat ist bei Sinapis möglich nach HILTNER u. KRONBERGER, Prakt. Bl. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz. 1917, p. 110. — 3) O. SCHREINER u. C. LATHROP, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 1242 (1912). WILSON, Biochem. Bull., *3*, 202 (1914). — 4) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Akad., *116*, I, 84 (1887). Zur Chemie der N-haltigen Huminstoffe: MARCUSSON, Ztsch. angew. Chem., *31*, 237 (1918). — 5) J. NIKITINSKY, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 365 (1902). — 6) F. REINITZER, Botan. Ztg. (1900), I, 58. Bodenmikroben und Pflanzenernährung: E. LAURENT, Rec. Inst. Botan. Brux., *3*, 29 (1908). — 7) E. K. KLAUSEN, Justs Jahresber. (1888), I, 33. — 8) D. CHOUCHAK, Compt. rend., *156*, 1696 u. 1784 (1913).

Nutzen der Fleischnahrung für die verschiedenen Formen der tierfangenden Phanerogamen (die biologischen Einrichtungen, die von DARWIN, GOEBEL und anderen Forschern in trefflicher Weise erläutert worden sind (1), fallen nicht in den Kreis dieser Betrachtung) bestanden wohl in älterer und neuerer Zeit (2) hier und da Zweifel. Doch dürfen wir es wenigstens für eine Reihe von Formen als erwiesen betrachten, daß die Ausübung des Tierfanges eine entschieden Vorteil bringende Funktion ist, welche allerdings nicht als unbedingt lebensnotwendig bezeichnet werden kann. In einer ökologischen Studie über die Insectivoren hebt SCHMID (3) hervor; daß die Resorption der tierischen Stoffe durch die Blätter auch die geringe Ausbildung des Wurzelsystems dieser Pflanzen zu ersetzen hat, und die Versorgung mit Phosphorsäure und Kali gewiß mit zu berücksichtigen ist. Auch bedingt die Tierverdauung Erhöhung der Kohlensäureassimilation in den Blättern. Stärke oder Fett werden aber von den Blättern nicht aufgenommen.

Daß Drosera rotundifolia besseres Wachstum und vermehrte Produktion von Körpersubstanz zeigt, wenn man die Pflanzen mit Blattläusen, gehacktem Fleich usw. füttert, haben die Parallelversuche mit ungefütterten Pflanzen [F. DARWIN, REES, KELLERMANN und RAUMER, BÜSGEN (4)] übereinstimmend ergeben. Die Zahl der Blütenstände war größer, die Zahl der Samen und deren Gewicht mehr als verdoppelt; auch die Zahl der Blätter fand DARWIN vermehrt, ohne daß jedoch die Spreiten größere Flächenausdehnung erhalten hätten. Nachteilige Folgen erwuchsen für Drosera wie für andere untersuchte tierfangende Pflanzen aus dem Unterbleiben einer Fleischfütterung in keiner Weise.

Die naheliegende Annahme, daß carnivore Pflanzen sich die Eiweißstoffe ihrer Beute durch proteolytische Enzyme zugänglich machen, hat sich für die meisten Fälle bestätigt; allerdings sind nicht alle Vorkommnisse in dieser Richtung hinreichend erforscht und aufgeklärt. Bei Droserablättern erhielten zuerst REES und WILL (5) positive Resultate, indem es gelang eine lösende Wirkung auf Fibrinflocken bei dem mit Salzsäure versetzten Glycerinextrakt der Blätter sicherzustellen. CH. DARWIN (6), welcher die lösende Wirkung des nativen Droserasekretes auf verschiedene Eiweißstoffe beobachtete, machte darauf aufmerksam, daß das Sekret der Tentakel nach erfolgter Berührung mit N-haltigen Stoffen nicht nur reichlicher wird, sondern auch saure Reaktion annimmt. Welche Säure produziert wird, ist bis heute noch nicht bekannt. Nach den von DARWIN zitierten Angaben von FRANKLAND sind freie Mineralsäuren in Droserablättern nicht vorhanden, wohl aber Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure nachzuweisen. Die von WILL (7) in GORUPS Laboratorium

---

1) CHS. DARWIN, Insektenfressende Pflanzen (1876). CRAMER, Über die insektenfressenden Pflanzen. Zürich 1877. GOEBEL, Pflanzenbiolog. Schilderungen (1891). DRUDE, Schenks Handb. d. Botan., *1*. Allgemeine physiologische Betrachtungen über Insectivoren bei PFEFFER, Landw. Jahrb. (1877), p. 969; Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. I, p. 364 (1897). In den genannten Werken ist auch die Geschichte der Erforschung der in Rede stehenden Vorgänge dargelegt. — 2) DECANDOLLE, Arch. Sci. Phys., Avril 1876; NORDSTEDT, Justs Jahresber. (1874), II, 786; E. ASCHMANN, Ebenda (1877), p. 730. E. REGEL, Botan. Ztg. (1879), p. 645. DUCHARTRE, Bull. Soc. Bot., *25* (1878). Die Ansichten der älteren Botaniker hierüber vgl. MEYEN, Physiol., III, 550. TREVIRANUS, Physiol. d. Gewächse (1830), I, 482 u. 501. — 3) G. SCHMID, Flora, *104*, 335 (1912). — 4) FR. DARWIN, Journ. Linn. Soc., *17*, 17 (1878). M. REES, KELLERMANN u. v. RAUMER, Botan. Ztg. (1878), p. 209. M. BÜSGEN, Ebenda (1883), p. 569. — 5) REES u. WILL, Ebenda (1875), p. 713. — 6) CH. DARWIN, Insektenfressende Pflanzen, p. 76. — 7) WILL u. REES, Zentr. Agr. Chem., *10*, 230.

ausgeführte Untersuchung des Wasserextraktes aus Droserablättern ergab gleichfalls Buttersäure und Propionsäure, außerdem Ameisensäure. STEIN (1) gab an, daß man aus Drosera intermedia Citronensäure erhalten könne. Das proteolytische Enzym von Drosera zu isolieren, bemühten sich zuerst HOPPE-SEYLER und HERTER (2). Die Untersuchung einiger australischer Drosera-Arten durch WHITE (3) ergab, daß sich bei der Proteolyse durch Drosera-Enzym nur Pepton und keine Aminosäuren nachweisen ließ, auch war eine ereptische Wirkung nicht zu beobachten. Künstlich zugesetztes Pepton wurde aber resorbiert. Es würde sich demnach um ein typisch proteolytisches Enzym, dem Magenpepsin vergleichbar, handeln. Dies wurde zuletzt von DERNBY (4) bestätigt. In den Versuchen von ROBINSON (5) wurden durch Drosera-Enzym trockenes Ovalbumin, Fibrin, Tendomucoid und Nucleoprotein angegriffen, weniger stark Acidalbumin, Alkalieiweiß und Edestin; Collagen und Elastin gar nicht. Kreatin reizte die Tentakel nicht. Nach Angaben von WARGUNIN (6) soll das Drosera-Enzym relativ stark hitzebeständig sein. Daß das Drosera-Enzym, wie LABBÉ (7) annehmen wollte, bacteriellen Ursprunges sei, ist allen anderen Befunden gegenüber nicht wahrscheinlich.

Hinsichtlich der gleichfalls beim Tierfange tätigen Tentakeldrüsen an den Blättern der Gattungen Byblis und Roridula liegen aus neuerer Zeit nur Untersuchungen von BRUCE (8) vor. Bei Byblis gigantea zeigen die Stieldrüsen keine Reizbarkeit und keine enzymatische Sekretwirkung, wogegen die sitzenden Drüsen verdauende Wirkung und saure Sekretion besitzen. Auch die Tentakel von Roridula sind bewegungslos, und die Eiweißverdauung wird auf der Mittelrippe der Blattunterseite, nicht aber am Blattrande beobachtet.

Für die Blätter der Dionaea muscipula konstatierte gleichfalls DARWIN mit Sicherheit, daß das Drüsensekret, welches durch den Reiz der aufgelegten Eiweißpartikel produziert wird, Eiweiß, Fleisch und Gelatine auflöst; doch ist von dem proteolytischen Enzym selbst noch nichts bekannt geworden. Der Drüsensaft scheint hier noch stärker sauer zu reagieren als bei Drosera. Es soll nach DEIVAR (9) reichlich Ameisensäure darin vorkommen. Nach DARWIN ist die verdauende Tätigkeit der Dionaeablätter nicht besonders energisch, wie aus der Tatsache hervorzugehen scheint, daß das Blatt über der Beute längere Zeit zusammengeklappt verharrt, und den Prozeß nur wenigmal ausführen kann (10). Etwas besser bekannt ist die Eiweißverdauung der Drosophyllumblätter, die DARWIN ebenfalls studierte. In GOEBELS Versuchen ging die Resorption von Fibrinflocken an warmen Tagen sehr intensiv vor sich. Das Sekret der Tentakel reagiert hier bereits an ungereizten Drüsen stark sauer; nach DEWÈVRE (11) liegt hier nicht Ameisensäure vor. GOEBEL fand, daß das proteolytische Enzym, welches von LAWSON TAIT (12) als Droserin bezeichnet wurde, auch bei

1) G. STEIN, Ber. chem. Ges., *12*, 1603 (1879). Dort auch andere einschlägige Literaturangaben. — 2) HOPPE-SEYLER u. HERTER, Pflüg. Arch., *14*, 396. — 3) J. WHITE, Proc. Roy. Soc. (1910), B, *83*, p. 134. — 4) DERNBY, Biochem. Ztsch., *78*, 197 (1916). — 5) W. J. ROBINSON, Torreya, *9*, 109 (1909). — 6) W. WARGUNIN, Justs Jahresber. (1881), I, 53. — 7) E. LABBÉ, Thèse Paris (1904). Bot. Zentr., *102*, 333. — 8) A. N. BRUCE, Notes from the Roy. Bot. Gard. Edinburg, Nr. XVI, p. 9 (1905); Nr. XVII, p. 83 (1907). Über Byblis auch A. G. HAMILTON, Botan. Zentr., *96*, 579 (1904). — 9) DEIVAR, zit von BALFOUR, Gard. Chron. (1875), II, *8*, 67. Über Dionaea auch GARDINER, Proc. Roy. Soc. Lond., *26*, 180 (1884). — 10) Schließreflex von Dionaea: W. H. BROWN u. L. W. SHARP, Botan. Gaz., *49*, 290 (1910). — 11) A. DEWÈVRE, Ann. Sci. Nat., (8), *1*, 19 (1895); A. MEYER u. DEWÈVRE, Botan. Zentr., *60*, 32 (1894). — 12) LAWSON TAIT, Nature (1875), p. 251.

Drosophyllum erst auf den Reiz der Berührung mit dem eiweißhaltigen Körper produziert wird, und zwar von den kleinen Blattdrüsen, wogegen die langen, reichlich Schleim absondernden Drüsen vor allem als Fangapparate dienen. Von der durch F. COHN (1) zuerst näher studierten Aldrovandia vesiculosa fehlen bisher biochemische Untersuchungen.

Am besten bekannt ist der Verdauungsvorgang in den Kannen der Nepenthes-Arten. HOOKER (2) fand zuerst, daß binnen 24 Stunden kleine Eiweißwürfelchen, aber Fibrinflocken schon innerhalb 2—3 Stunden in dem Kannensekrete gelöst werden; er fand auch, daß die Wirkung des Sekretes nach Abfüllen desselben in Reagenzgläser viel schwächer ist. LAWSON TAIT konnte feststellen, daß die noch geschlossenen Kannen weder Säure noch Enzym in ihrer Inhaltsflüssigkeit führen, und daß sowohl das proteolytische Enzym wie die Säure erst in den bereits geöffneten, gereizten Kannen auftritt. Die Abhängigkeit der Säureproduktion von einer Reizung durch stickstoffhaltige Nahrung ergab sich ebenso in den Untersuchungen von GORUP-BESANEZ (3). Während das neutrale Sekret ungereizter Kannen auf gequollenes Fibrin auch binnen längerer Zeit nicht einwirkte, verdaute das saure Sekret gereizter Kannen Fibrinflocken bei 40° schon in 1 Stunde. Ein Zusatz von wenigen Tropfen verdünnter HCl beschleunigte die Proteolyse so energisch, daß Fibrin schon in 1/4 Stunde aufgelöst war. Das Verdauungsgemisch gab dann keinen Niederschlag mit Ferrocyankalium-Essigsäure oder Mineralsäuren, wohl aber mit Sublimat, Tannin, Phosphorwolframsäure, und lieferte eine rosenrote Biuretreaktion. Günstige Wirkung äußerte auch Zusatz von Ameisensäure. VINES (4) zeigte, daß das Glycerinextrakt aus den Kannen proteolytisch wirkt, wenngleich schwächer als das Sekret gereizter Kannen: Durch Vorbehandlung des Materiales mit Essigsäure erhält man ein wirksames Glycerinextrakt, woraus VINES schloß, daß ein „Pepsinogen“ im Kannengewebe anzunehmen sei.

Die in der Folge von DUBOIS, TISCHUTKIN, COUVREUR (5) geäußerte Ansicht, daß die Proteolyse in den Nepentheskannen und bei den Blättern anderer tierfangender Pflanzen das Werk von Bacterien sei, welche sich in der Sekretflüssigkeit ansiedeln, entbehrt einer hinreichenden Kritik und wurde mehrfach, besonders durch GOEBEL und VINES, widerlegt (6). Der letztgenannte Forscher bewies, daß die Eiweißverdauung in den Nepentheskannen selbst in Gegenwart antiseptischer Stoffe vor sich geht. Bei VINES finden sich auch die älteren Analysen der Flüssigkeit in den Nepentheskannen mitgeteilt. VOELCKER (7) gab an, daß im Trockenrückstande des Sekretes 38,6% Äpfel- und Citronensäure, 50,42% KCl, 6,36% Na_2CO_3, ferner Ca (2,59%) und Mg (2,59%) gefunden wurde. GOEBEL neigt zu der Ansicht, daß die sezernierte Säure bei Nepenthes Ameisensäure sei. Die proteolytische Wirksamkeit behält das Sekret nach VINES selbst in Gegenwart von konzentriertem Glycerin oder 1% Blausäure bei. Das Glycerinextrakt aus den Kannen, wozu relativ junge Blätter verwendet werden müssen, kann monatelang unveränderte Verdauungskraft zeigen.

---

1) F. COHN, Beitr. z. Biol. d. Pflanz., *1*, *3*, 71 (1875). Auch DARWIN, l. c., p. 290. — 2) J. HOOKER, Nature, *10*, 366 (1874). — 3) GORUP BESANEZ u. WILL, Ber. chem. Ges., *9*, 673 (1876). Sitz.ber. Phys. Soc. Erlangen (1876), p. 152. — 4) S. H. VINES, Journ. Linn. Soc., *15*, 427 (1877). Journ. Anat. and Physiol., *11*, 124 (1876). — 5) R. DUBOIS, Compt. rend., *111*, 315 (1890); M. TISCHUTKIN, Ber. bot. Ges., *7*, 346 (1889); Botan. Zentr., *50*, 304 (1892); *53*, 322 (1893); E. COUVREUR, Compt. rend., *130*, 848 (1900). — 6) GOEBEL, l. c. p. 186; S. H. VINES, Ann. of Bot., *11*, 563 (1897); *12*, 545 (1898); *15*, 563 (1901). — 7) A. VOELCKER, Journ. prakt. Chem., *48*, 245 (1849).

1% NaOH in 1stündiger Einwirkung oder 3stündige Behandlung mit 5% Na_2CO_3 hob die Enzymwirkung auf. Am schnellsten verlief die Verdauung (binnen ½ Stunde) in den Versuchen von VINES bei Anwendung von 0,25% HCl auf 0,05 g Fibrin. 0,125% HCl wirkte bereits etwas schwächer, ebenso 0,5% HCl. Das Enzym ließ sich durch Alkohol ohne Verlust seiner Wirksamkeit ausfällen. Temperaturen nahe an 100° zerstörten die Wirksamkeit binnen wenigen Minuten. VINES gab an, daß unter den Verdauungsprodukten Deuteroalbumose, Pepton und Aminosäuren (Leucin) vorkommen; auch zeigte das Verdauungsgemisch die Tryptophanprobe. Danach würde die Wirkung eine tryptische sein. Diese Befunde sind jedoch teilweise zweifelhaft. ABDERHALDEN und TERUUCHI (1) fanden nämlich, daß der neutrale fadenziehende Sekretsaft von Nepenthes auf Glycyl-l-Tyrosin ohne Wirkung ist, hingegen Fibrinflocken löst. Dies stimmt auch mit den Erfahrungen am Droserasekret besser überein, und die Befunde von VINES hinsichtlich Leucin bedürfen einer Nachprüfung. Filtration durch BERKEFELDT-Filter gelang wie bei Pepsin und Ptyalin nicht ohne Beeinträchtigung der Wirksamkeit. Von großem Interesse ist die konstante Ansiedelung von Insekten, 7 Dipteren-Arten, im Kanneninhalt, welche dort ihren ganzen Entwicklungsgang durchmachen (2). Diese Tiere scheinen ein Antiferment zu besitzen, welches eine Schädigung durch das Kannensekret verhindert.

Sehr wichtige Ergänzungen haben die Laboratoriumsversuche mit Nepenthes durch die Untersuchung der Verdauungstätigkeit der Kannen am natürlichen Standorte der Pflanzen gefunden. Der Kanneninhalt der Nepenthes melamphora in Java ist nach CLAUTRIAU (3) farblos, schwach schleimig und besitzt einen charakteristischen, an gewisse Honigarten erinnernden Geruch, welcher stärker wird, wenn Insekten in der Kanne gefangen worden sind. Er reagiert bei ungereizten Kannen stets neutral und ist geschmacklos. Reizt man die Kannen durch Schütteln oder Einbringen von Insekten (was auch bei geschlossenen Kannen gelingt), so nimmt der Kanneninhalt stark saure Reaktion gegen Lackmus an. CLAUTRIAU erreichte diesen Effekt auch durch Einführung kleiner Glaskapillaren oder anderer Fremdkörper in die noch geschlossenen Kannen. In die Kannen geratene Insekten werden durch die Flüssigkeit sehr rasch und vollkommen benetzt und sinken daher schnell unter. CLAUTRIAU konnte durch genaue Versuche, in welchen Eiweiß unter aseptischen Kautelen in noch nicht geöffnete Kannen eingeführt wurde, zeigen, daß normale Verdauung ohne Mitwirkung von Bacterien stattfindet. In den Kannen der wildwachsenden Pflanzen verschwindet die eingeführte Eiweißlösung so rasch, daß nur ganz zweifelhafte Peptonreaktion sichergestellt werden konnte. Leucin oder Tyrosin wurden nicht gefunden. Die Eiweißverdauung in den Kannen von Cephalotus follicularis ist noch unbekannt. Nach GOEBEL hat das Sekret der Cephalotuskannen eine ausgesprochen fäulnishemmende Wirkung. Auch hinsichtlich der Sarraceniakannen weiß man noch nicht viel. Es liegen ältere Angaben von ZIPPERER vor (4),

---

1) E. ABDERHALDEN u. Y. TERUUCHI, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 24 (1906). — 2) J. C. H. MEIJERE u. HJ. JENSEN, Ann. Jard. Bot. Buitenzorg, 3. Suppl., II, 917 (1910). — 3) G. CLAUTRIAU, Mém. cour. et autr. Mém. publ. par l'Acad. roy. Belg. (1900). La Digestion dans les Urnes des Nepenthes. Zur Biologie d. Kannen auch E. HEINRICHER, Nat. Ges. (1905), II, *1*, 192; Ann. Jard. Bot. Buitenzorg (1906) (2), *5*, 277. SOLMS-LAUBACH, Bot. Ztg. (1907), II, 1, *65*. F. KNOLL, Jahrb. wiss. Bot., *54*, 197 (1916). K. STERN, Flora, *109*, 213 (1917). Zur Anatomie der Kannen: J. HEIDE, Botan. Tidskr., *30*, 2 (1910). O. BOBISUT, Anzeig. kais. Ak. (1910), p. 23. — 4) ZIPPERER, Dissert. Erlangen (1885).

und dann hat W. GIES (1) angegeben, daß ein Glycerinextrakt aus den Kannen in Gegenwart von kleinen Mengen Salzsäure oder Oxalsäure auf Fibrin eine mäßige Verdauungswirkung ausübt. In neutraler Lösung war das Extrakt ohne Wirkung. Die saure Lösung des Glycerinextraktes war durch ein von GRIES „Alkaverdin" genanntes Pigment scharlachrot gefärbt. Macht man die Lösung alkalisch, so schlägt der Farbenton in Grün um. Neutrale verdünnte Lösungen sind fast farblos und werden erst auf Säurezusatz rosa gefärbt. Dieser Stoff gehört wohl zu den Anthocyaninen.

Bei Pinguicula wurde der Verdauungsvorgang durch CH. DARWIN ausführlich untersucht. Bekanntlich werden hier die Blätter durch Auflegen von Insekten oder Fleischstückchen angeregt, ihre Ränder gegen die Mitte zu einzurollen. Dabei wird das schleimige Sekret der Blattdrüsen, welches bei ungereizten Blättern neutrale Reaktion zeigt, deutlich sauer. Die Eiweißresorption geschieht nach DARWIN und GOEBEL bei Anwendung verschiedener Materialien recht energisch. GOEBEL hat auch die Ansicht von TISCHUTKIN (2), wonach Bacterien bei der Verdauung von Eiweißsubstanzen durch Pinguiculablätter beteiligt seien, widerlegt. Es scheint, als ob das Sekret sogar antiseptische Eigenschaften hätte. Nach GOEBEL ist die von Pinguiculablättern produzierte Enzymmenge nicht bedeutend. Casein wird nach DERNBY (3) durch das Pinguiculaenzym in saurer Lösung koaguliert, aber nicht weiter angegriffen. Pepton wird in schwach alkalischer Lösung gespalten (Optimum p_H 8 bis 9). Ein ereptisches Enzym war nicht nachzuweisen. Es handelt sich also um tryptische Wirkungen. Der Blätterpreßsaft zeigte die öfters angegebene Fähigkeit Milch „dick" zu machen nicht.

Der Tierfang von Utricularia wurde von DARWIN und F. COHN untersucht. Die in den Blasen oft reichlich vorhandenen Tiere, Crustaceen (bemerkt sei die Mimicry der Blasen, welche in der Form sehr an entomostrake Crustaceen erinnern) werden anscheinend festgehalten bis sie sterben. LUETZELBURG (4) gelang es wahrscheinlich zu machen, daß auch hier proteolytisches Enzym erzeugt wird; es soll angeblich ein tryptisches Enzym vorliegen. Die gleichzeitig gefundene Benzoesäure wird als Antisepticum anzusehen sein. Die Tröpfchen, welche in den vierarmigen Haaren der Innenseite der Blasen schon von DARWIN beobachtet wurden, sind nach GOEBEL Fett und entstammen vielleicht den Tierleichen. Nach SIMMS (5) soll sogar Fischbrut in den Utriculariablasen gefangen werden.

Von einer ganzen Reihe von Pflanzen (6) ist Tierfang und Ausnutzung der tierischen Stoffe mit mehr oder weniger gutem Grunde angenommen worden, ohne daß diese Fälle als sichergestellt gelten können. Auf diese Vorkommnisse kann hier nicht näher eingegangen werden. Es sei nur hinsichtlich Lathraea hervorgehoben, daß die Untersuchungen von GOEBEL (7) und von HABERLANDT (8) andere, besser begründete Ansichten bezüglich der Funktion

1) W. S. GIES, Journ. New York Bot. Gard., *4*, 38 (1903). G. M. MEYER u. GIES, Biochem. Zentr., *3*, Ref. 1992 (1905). — 2) TISCHUTKIN, Ber. Bot. Ges., *7*, 346 (1889). MORREN, Bull. Ac. Roy. Belg. (2), *39*, 870 (1875). — 3) K. G. DERNBY, Biochem. Ztsch., *80*, 152 (1917). — 4) PH. v. LUETZELBURG, Flora, *100*, 145 (1910). — 5) G. E. SIMMS, Nature, *30* (1884). Eine gute Schilderung des Tierfanges von Utricularia gab M. BÜSGEN, Ber. bot. Ges., *6*, p. LV (1888). Über angebliche Aspirationswirkungen als Hilfsmechanismus beim Tierfang der Utricularien: FR. BROCHER, Ann. Biol. lacustr., *6* (1911). — 6) Vgl. z. B. BECCARI, Malesia, *2*, 213 (1886) für Melastomaceenblätter; GONZALEZ, Journ. Micrcsc., *14*, 109 (1890) für Bignoniablüten; A. KERNER u. WETTSTEIN, Sitz.ber. Wien. Ak. (1886) für Lathraea u. Bartschia; auch KERNER, Pflanzenleben, 1. Aufl., *1*, 126 (1887). — 7) GOEBEL, Flora (1897), p. 444. — 8) HABERLANDT, Jahrb. wiss. Botan., *30*, 511 (1897).

der Höhlen und deren Drüsen (Hydathoden) in den Rhizomschuppen gegeben haben.

Auch Pilze sind als tierfangende Pflanzen angegeben worden. ZOPF (1) berichtete über einen Nematoden fangenden Schimmelpilz (Arthrobotrys oligospora). Nach SOMMERSTORFF (2) fängt die von diesem Forscher neu aufgefundene Saprolegniacee Zoophagus insidians Rotatorien mittels eigens ausgebildeter Zweige (Kurzhyphen). Weniger sicher erscheint der von MAC MILLAN (3) angegebene Tierfang durch den nordamerikanischen Polyporus applanatus, welcher auf seiner Unterseite zahlreiche kleine Insecten festhalten soll.

IV. Teil: **Die Mineralstoffe im pflanzlichen Stoffwechsel.**

Abschnitt 1: **Die Mineralstoffe im Stoffwechsel der niederen Pflanzen.**

Achtundvierzigstes Kapitel: **Mineralstoffe bei Bacterien und Pilzen.**

§ 1.

Die Aschenstoffe der Bacterien.

Über die Mengenverhältnisse der Gesamtasche und der einzelnen Aschenbestandteile liegen für zahlreiche Bacterienformen unter verschiedenen Kulturbedingungen experimentelle Erfahrungen vor.

Schon NENCKI (4) stellte an Gemischen von Fäulnisbacterien den Gesamtaschengehalt fest. Seine Zahlen hierfür betrugen 3,04—4,72% der Bacterientrockensubstanz. NÄGELI (5) fand für Essigmutter 3,37% Asche, für eine in Ammoniumtartrat gezogene „Mikrokokkenvegetation" 6,94% Asche. BOVET (6) gab für Bacillus erythematis nodosi 7,5% Aschengehalt an. KAPPES (7) analysierte eine Reihe von Massenkulturen verschiedener Bacterien; dieselben waren auf einem Nährsubstrate erwachsen, welches aus 1,5% Agar, 1,0% Fleischextrakt, 1,5% Pepton, 0,5% NaCl und 95,5% Wasser bestand; die Mikrobenmassen wurden vom Substrate vorsichtig mit dem Spatel abgetragen. In die Untersuchung wurde auch der nicht zu den Bacterien gehörende Soorpilz, Oidium albicans, einbezogen. 100 Teile der Trockensubstanz der Bacterien enthielten bei

---

SCHERFFEL, Mitteil. bot. Inst. Graz (1888), p. 187. HEINRICHER, Ber. bot. Ges., *11*, 7 (1893); Beitr. Biol. d. Pfl., *7*, 315 (1895); JOST, Botan. Ztg. (1888), p. 428.

1) W. ZOPF, Nov. Act. Leopold., *52*, 321 (1888). — 2) H. SOMMERSTORFF, Österr. botan. Ztsch., *61*, 361 (1911). Mitteil. naturw. Ver. Univ. Wien, *10*, 37 (1912). — 3) C. MAC MILLAN, Bot. Gazette, *17*, 381 (1892). — 4) NENCKI, Beiträge z. Biol. d. Spaltpilze (1880). — 5) NÄGELI, Theorie der Gärung (1879), p. 111. — 6) BOVET, Monatsh. Chem., *9*, 1152 (1888). — 7) H. C. KAPPES, Dissert. Leipzig (1890); Kochs Jahresber. Gär.org., *1*, 28 (1890).

	Gesamt-asche	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	P_2O_5	Cl	NaCl	SiO_2
Bacill. prodigiosus	13,47	1,55	3,93	0,56	1,05	5,12	0,66	1,08	0,07
Xerosebacillus .	9,52	1,06	2,34	0,28	0,58	3,28	0,06	0,10	0,05
Soorpilz . . .	10,83	0,946	1,95	1,47	0,74	5,73	0,03	0,05	0,21

In 4 Wochen alten Gelatinestrichkulturen von FRIEDLÄNDERschen Pneumoniebacillen fand BRIEGER (1) nicht weniger als 30,13% der fettfreien Trockensubstanz aus Asche bestehend. Auch hier waren die Bacterienmassen mit dem Spatel rein eingesammelt worden. Der Wassergehalt der frischen Bacterien betrug 84,2%. Hingegen bestimmten DRZIERZGOWSKI und REKOWSKI (2) für Diphtheriebacillen in reinem Pepton erzogen nur 4,57% Aschengehalt, Rotzbacillenkulturen, welche KRESLING (3) untersuchte, enthielten 6,67% der Trockensubstanz an Asche. Darin war „viel" PO_4, K, Na, SO_4, Spuren von Fe und Cl. HAMMERSCHLAG (4) erhielt aus Tuberkelbacillen in Glycerinpepton-Agarkultur 8% der Trockensubstanz an Asche. In einem Wasserbacillus konstatierte NISHIMURA (5) 15,63% Trockensubstanz, davon 11,15% Asche. In einer Reihe Arbeiten war CRAMER (6) bemüht, den Aschengehalt von Bacterienkulturen unter verschiedenen Lebensbedingungen sicherzustellen. Ein Wasserbacterium wurde in Kulturen, die bei 33°, und anderen Kulturen, die bei Zimmertemperatur erwachsen waren, untersucht. Als Durchschnittswert von vier Versuchen ergab sich für 33° 9,31% Aschengehalt, für Zimmertemperatur 12,52%. Ob dieses Resultat nur durch den bei höherer Temperatur früher eintretenden Höhepunkt im Entwicklungsgange bedingt war, oder ob physikalische Änderungen, wie gesteigerte Adsorption usw., eine Rolle spielten, blieb unentschieden. Wie zu erwarten, steigt der Aschengehalt der Kulturen mit dem Alter. 4tägige Kulturen ergaben im Mittel 11,38% der Trockensubstanz an Asche, 13- bis 16tägige aber 13,77%. Der Einfluß des Substrates wurde verschiedenfach geprüft. Der erwähnte Wasserbacillus wies, auf alten Kartoffeln gewachsen, 12,8% der Trockensubstanz an Asche auf, während er auf jungen, wasserreicheren Knollen gewachsen, nur 9,85% ergab. Dabei war die Gesamttrockensubstanzproduktion 19,39% gegen 21,49% im ersteren Falle. Ferner betrug der Aschengehalt bei

Kultur auf Nähragar	PFEIFFERS Kapselbacillus	Wasser-bacillus	Pneumonie bacillus	Rhinosklerom-bacillus	
mit 1% Pepton . . .	12,56	11,42	13,94	13,45%	Asche
5% „ . . .	9,10	7,79	10,36	9,33%	„
5% Traubenzucker	9,13	9,20	7,88	9,44%	„

Aschenreichere Substrate waren unter Umständen imstande, den Aschengehalt der Bacterien bedeutend zu erhöhen. So ergaben Choleravibrionen, in 10% Sodabouillon kultiviert, 31% der Trockensubstanz an Asche (Wassergehalt 88,3%), während in der aschenärmeren, eiweißfreien USCHINSKYschen Nährlösung nur 11,32% der Trockensubstanz auf Aschenstoffe kamen. Je nach dem Nährboden enthielten Choleravibrionen 8,35 bis 28,44% Aschenstoffe im Trockenrückstande. Auch für einzelne Aschenbestandteile (im besonderen prüfte CRAMER SO_4, PO_4 und Cl) ergab sich

---

1) BRIEGER, zit. bei FLÜGGE, Die Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. I, p. 98 (1896). — 2) DRZIERZGOWSKI u. REKOWSKI, Arch. Sci. Biol. (1892), p. 167. — 3) K. KRESLING, Ebenda, *1*, 711 (1892). — 4) HAMMERSCHLAG, Zentr. med. Wiss. (1891), Nr. 1. — 5) T. NISHIMURA, Arch. Hyg., *18*, 318 (1893). — 6) E. CRAMER, Ebenda, *13*, 76; *16*, 151 (1892); *22*, 167 (1895); *26*, 377 (1897); *28*, 1.

Anreicherung aus dem Substrate, so daß die Bacterien um so mehr an diesen Stoffen enthielten, je reicher das Substrat daran war. Es kam so weit, daß die Bacterienasche zu 70—80% aus NaCl oder NaH_2PO_4 bestand. Auf solche Verhältnisse werden sich wohl auch die Angaben von FERMI (1) über „mikrobische Asche, vorzugsweise aus einem einzigen Metalle bestehend", zurückführen lassen. Gering gegenüber den erwähnten Angaben erscheint der Aschengehalt von Tuberkelbacillen in den Untersuchungen von SCHWEINITZ und DORSET (2). In Bouillon erzogene Tuberkelbacillen enthielten 1,77%, in Nährsalz-Glycerin-Asparagin kultivierte 1,92% Asche, während Rotzbacillen, in Bouillon erwachsen, 5,18% Asche ergaben. Tuberkelbacillen in Rindsbouillon mit 1% Pepton, 0,5% NaCl und 7% Glycerin kultiviert enthielten 2—4% der Trockensubstanz an Aschenstoffen. Davon waren Na_2O 13,62%, K_2O 6,35%, CaO 12,64%. MgO 11,55%, C und SiO_2 0,57%, P_2O_5 55,23%; in anderen Fällen war 60—70% der Asche Phosphorsäure. Tuberkelbacillen ergaben in Untersuchungen von BAUDRAN (3) Eisen und Spuren von Mangan. Bacillus coli communis wies in Analysen von LEACH (4) 8,5% Asche und 3% PO_4 auf. In der Asche von Essigbacterien fand ALILAIRE (5): SiO_2 0,6%, Cu 1,66%, Fe_2O_3 10,7%, H_3PO_4 47,45%, CaO 10,7%, MgO 8,0%, KOH 18,02% und NaOH 2,87%. Aschengehalt des entfetteten Materiales war 5,9%. Die Asche von Azotobacter chroococcum besteht nach OMELIANSKY (6) wesentlich aus Kali und Phosphorsäure. Im Mittel betrug der ziemlich stark variierende Gesamtaschengehalt hier 4,16% des Trockengewichtes. Wie stark die Aschenquantität mit der Zusammensetzung des Nährbodens in Bacterienkulturen schwankt, geht auch aus der Arbeit von TAMURA (7) hervor, welcher bei Bacill tuberculosis 9,563% Asche, bei Mycobacterium lacticola in Bouillonkultur 8,223, in eiweißfreier Kulturflüssigkeit mit 5,08% bestimmte. Die Aschenbestandteile im einzelnen waren wie folgt:

	P_2O_5	CaO	MgO	Cl	SO_3	K_2O	Na_2O
Bacill. tuberculosis . .	46,97	8,59	9,81	1,25	10,79	8,23	11,48%
Mycobacterium in Bouill.	48,29	16,24	8,73	0,998	15,14	6,16	9,73%
„ in eiweißfreiem Nährboden .	67,56	0,061	20,99	2,03	–	6,05	4,13%

Es darf nicht vergessen werden, daß alle Analysen, speziell jene, die die Variationen des Aschengehaltes mit der Zusammensetzung des Substrates betreffen, schwer zu vermeidende Fehlerquellen besitzen, und Beimengungen von Substrataschenstoffen schon durch Adsorption in den Bacterienschleimmassen zustandekommen müssen. Bisher ist es kaum gelungen, diese Fehler zu eliminieren, und der Verdacht ist nicht ungerechtfertigt, daß die wiederholten Angaben über Aschengehalt der Bacterienkulturen von 20—30% durch derartige Faktoren zu erklären sind. Vielleicht weicht der Aschengehalt der Bacterienzellen auch in diesen Fällen nicht von den sonst konstatierten Grenzen ab.

---

1) CL. FERMI, Zentr. Bakt., I, *29*, 9 (1901). — 2) E. DE SCHWEINITZ u. M. DORSET, Journ. Amer. Chem. Soc., *17*, 605 (1895). Zentr. Bakt., I, *23*, 993 (1898). Botan. Literaturbl. (1903), p. 196. — 3) G. BAUDRAN, Compt. rend., *142*, 657 (1906). — 4) M. F. LEACH, Journ. biol. Chem., *1*, 463 (1906). — 5) E. ALILAIRE, Compt. rend., *143*, 176 (1906). — 6) W. L. OMELIANSKY u. N. O. SIEBER, Ztsch. physiol. Chem., *88*, 445 (1913). — 7) S. TAMURA, Ebenda, p. 190.

LILIENFELD und MONTI (1) wollten PO_4 im Bacterienzelleib durch molybdänsalpetersaures Ammonium und Reduktion mittels Pyrogallol durch die dabei entstehende Braunfärbung nachweisen. Doch können adsorbierte Molybdatspuren die Probe gleichfalls veranlassen, weswegen diese Reaktion sehr unverläßlich ist. Anderweitige mikrochemische Studien über Bacterienaschenstoffe sind kaum gemacht worden.

Im Anschlusse an die Aschenstoffe der Bacterien seien noch die Resultate, welche REINKE und RODEWALD (2) hinsichtlich der Aschenstoffe aus Fuligo-Plasmodien gewannen, kurz erwähnt. In Prozenten der lufttrockenen Substanz war ein Aschenstoffgehalt von 31,95 % bestimmt worden; hiervon waren 27,70 % $CaCO_3$, 0,1 % NaCl, 1,21 % K_2HPO_4, 0,07 % Ferrophosphat, 1,44 % Ammoniummagnesiaphosphat, 0,91 % Tricalciumphosphat und 0,52 % organische Kalksalze. Andere Myxomyceten sind bisher nicht untersucht worden.

§ 2.

Die Aschenstoffe der Sproßpilze.

Schon im Jahre 1796 wies WESTRUMB (3) in der Asche der Bierhefe Kali, Kalk, Phosphorsäure und Kieselsäure nach; aus der Mitte des 19. Jahrhunderts stammen die Untersuchungen von BRACONNOT, MITSCHERLICH, BULL, ROSE, THOMSON (4) über die Zusammensetzung der Bier- und Weinhefe und über deren Aschenstoffe. Spätere Arbeiten auf diesem Gebiete rühren her von SCHLOSSBERGER, LIEBIG, PAYEN, NÄGELI, BÉCHAMP, BÜRKLIN, WAGNER, BĚLOHOUBEK und anderen Autoren (5). Trotzdem ist die Abhängigkeit des Gehaltes der Saccharomyceten an Gesamtasche von den Kulturbedingungen und dem Lebensstadium nicht hinlänglich aufgeklärt. Für Unterhefen und Oberhefen der Brauerei wird von einigen Seiten verschiedener, von anderen Untersuchern annähernd gleicher Aschengehalt angegeben. Im ganzen bewegen sich die Zahlen zwischen 2 und 7 % Gesamtaschenstoffe; einige Angaben gehen bis über 9 %. Gut gereinigtes, von Nährflüssigkeit freies, lebenskräftiges Material dürfte eher niedere Werte ergeben. GUICHARD (6) fand für die von ihm untersuchte Hefe 71—72 % Wassergehalt, und von der Trockensubstanz 1,94—2,16 % Aschenbestandteile.

Die Reinasche der Hefen besteht etwa zur Hälfte aus Phosphorsäure und etwa ein Drittel ist Kali. Solche Verhältnisse entsprechen allenthalben der Zusammensetzung plasmareicher Organe. Über die PO_4 der Hefe und des Hefepreßsaftes sind neuere Angaben von BUCHNER (7) zu vergleichen. Ein Mittel aus drei von LINTNER angestellten Analysen ergab 50,6 % PO_4, 1,34 % SiO_2, 33,49 % K_2O (dabei ein wenig Na_2O), 6,12 % MgO, 5,47 % CaO, 0,56 % SO_4, 0,5 % Fe_2O_3. Auch die älteren Analysen weichen von diesen

1) L. LILIENFELD u. A. MONTI, Ztsch. physiol. Chem., *17*, 410 (1893). — 2) J. REINKE u. RODEWALD, Untersuch. Botan. Labor. Göttingen (1881), Heft 2. — 3) WESTRUMB, Crells Annal. (1796), I, 1. — 4) H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *47*, 59 (1831). MITSCHERLICH, Lieb. Ann., *56*, 356 (1845); Journ. prakt. Chem., *36*, 231 (1845); BULL, ROSE, Pogg. Ann., *76*, 401 (1849). R. D. THOMSON, Lieb. Ann., *82*, 372 (1852). — 5) LIEBIG, Journ. prakt. Chem., *1*, 44 (1870). A. BÉCHAMP, Compt. rend., *73*, 340 (1871); M. BÜRKLIN, Zentr. Agr. Chem., *4*, 243 (1873); A. BĚLOHOUBEK, Just 1875, p. 288; NÄGELI u. O. LOEW, Lieb. Ann., *193*, 322 (1878); LOTT, zit. bei DUCLAUX, Traité de Microbiol., *3*, 137; LAFAR, Handb. techn. Mykol., *4*, 83 (1905). EULER u. LINDNER, Chemie der Hefe u. d. alkohol. Gärung. Leipzig 1915, p. 72. — 6) P. GUICHARD, Bull. Soc. Chim. (3), *11*, 230 (1894). — 7) ED. BUCHNER u. H. HAEHN, Biochem. Ztsch., *27*, 418 (1910).

Werten nicht sehr ab. Eine größere Zahl derselben findet sich in den Zusammenstellungen von WOLFF (1). Über Schwankungen des Gehaltes an einzelnen Aschenbestandteilen fehlen exakte Untersuchungen.

Mikrochemische Erfahrungen über Hefeaschenstoffen sind gleichfalls erwünscht. Nach BOKORNY (2), welcher das Vorkommen von Kali in Hefezellen mit Hilfe der Natriumcobaltnitrit-Methode prüfte, finden sich Kaliverbindungen nachweislich im Zellsaft.

§ 3.

Die Aschenstoffe bei höheren Pilzen.

Die als biologische Untersuchungsobjekte so viel benutzten Aspergillus- und Penicillium-Arten beanspruchen hinsichtlich ihrer Aschenbestandteile besonderes Interesse, da sie zu jenen Formen gehören, welche man am leichtesten auf verschiedenartigen Substraten kultivieren kann, so daß man die Abhängigkeit der Zusammensetzung der Asche von den im Substrate vorhandenen Mineralbestandteilen sicherzustellen vermag. Insbesondere sind die in einem der nächsten Paragraphen darzulegenden Erscheinungen, welche nach Weglassung und Substituierung einzelner Substrataschenbestandteile auftreten, viel studiert worden. Weniger bekannt sind die quantitativen Alterationen, welche die Pilzasche im Gesamtgewicht und in den Partialgewichten ihrer Bestandteile je nach der Beschaffenheit des Nährsubstrates erfährt. Im ganzen scheinen die Änderungen, sobald es sich nicht um gewichtige Störungen des normalen Gedeihens der Pilze handelt, nicht sehr bedeutend zu sein. Doch mögen immerhin Anpassungen innerhalb bestimmter, mit den Versuchsbedingungen wechselnder Grenzen vorkommen, die noch näher festzulegen wären. Wenig kritische Versuche von FERMI (3) beweisen nur, daß auch eine Reihe von sonst in der Pilzasche fehlenden Metallen in bestimmbarem Maße von den Pilzen aufgenommen werden. Bei Penicillium glaucum fand SIEBER (4) 4,89 % der Trockensubstanz an Asche, wenn der Pilz auf Zuckergelatine kultiviert war, und 0,73 % Asche, wenn Salmiak-Zuckerlösung als Nährsubstrat gedient hatte. MARSCHALL (5), der die Pilze auf Pepton-Fleischextrakt-Bouillon unter Zusatz von 1 % Weinsäure und 2 % Traubenzucker erzog, bestimmte den Aschengehalt bei Aspergillus niger mit 6 %, bei Penicillium zu 6,2 %, bei Rhizopus nigricans (Mucor stolonifer) mit 6,9 % der Trockensubstanz. Die Conidien von Penicillium enthalten nach CRAMER (6) 1,9 % Asche; Conidien von Aspergillus oryzae nach ASO (7) 5,151 % Asche. Hiervon waren 45,964 % K_2O, 4,131 % Na_2O, 1,038 % CaO, 4,364 % MgO, 4,916 % Fe_2O_3, 39,640 % P_2O_5, 2 % SiO_2 und eine Spur Cl. Für Oidium albicans fand KAPPES (8) 10,83 % Aschenstoffe, deren Bestandteile schon oben angegeben worden sind. Detaillierte Analysen der Asche der häufig benutzten Schimmelpilze sind noch wünschenswert, besonders im Hinblick auf die möglichen physiologischen Schwankungen.

---

1) WOLFF, Aschenanalysen, *1*, 134; *2*, 109 (1880). — 2) TH. BOKORNY, Allg. Brauer- u. Hopfenztg., *52*, 113 (1913). — 3) CL. FERMI, Zentr. Bakt., I, *29*, 9 (1901). — 4) N. SIEBER, Journ. prakt. Chem., *23*, 412 (1881). — 5) MARSCHALL, Arch. Hyg., *28*, 16 (1897). — 6) E. CRAMER, Ebenda, *20*, 197 (1894). — 7) K. ASO. Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 81 (1900). — 8) H. C. KAPPES, Dissert. Leipzig (1890). Kochs Jahresber. Gär.org., *1*, 28 (1890).

Von den übrigen Pilzanalysen beziehen sich die meisten auf die großen Fruchtkörper der Hymenomyceten und andere massige Vegetationskörper von Pilzen (1).

Die gefundenen Zahlenwerte für Gesamtasche zeigen ziemlich große spezifische Differenzen. So führt v. LÖSECKE (2) als Prozentgehalte der Pilztrockensubstanz an Aschenstoffen an bei

Fistulina hepatica (Schaeff.)	6,33 %	Morchella esculenta (L.) . .	9,74 %
Clavaria botrytes Pers. .	6,23 %	Pholiota mutabilis (Schaeff.) .	6,46 %
Polyporus ovinus (Schaeff.)	2,33 %	Rozites caperata (Pers.) . .	6,02 %
Boletus granulatus (L.) .	6,42 %	Agaricus ulmarius Bull. . .	12,65 %
„ bovinus L. . .	6,0 %	Lepiota procera (Scop.) . .	7,0 %
„ elegans (Schum.) .	6,0 %	Marasmius oreades Fr. . .	10,57 %
„ luteus (L.) . . .	6,39 %	Hyporhodius prunulus (Scop.)	15,0 %
Armillaria mellea (Vahl) .	7,5 %	Lepiota excoriata (Schaeff.) .	4,34 %
Boletus edulis Bull. . . .	6,22 %	Globaria Bovista (L.) . . .	9,18 %
Cantharellus cibarius (Fr.)	8,19 %	Tuber brumale Vitt. . . .	9,73 %

Boletus edulis getrocknet, nach RUBNER (3) 7,94 % Asche.

Auch aus anderen Analysen ist zu schließen, daß der Aschenstoffgehalt des gesamten Fruchtkörpers der Hutpilze etwa 6—7 % der Trockensubstanz beträgt. Doch ist, wie Analysen von MARGEWICZ, STROHMER (4) und anderen gezeigt haben, der Stiel aschenärmer als der Hut selbst, und vom Hut ist das Hymenium oft die mineralstoffreichste Partie. Sehr ausgeprägt ist die Differenz in den Angaben STROHMERS über Boletus edulis, wo für den Stiel 1,95 %, für den Hut 8,29 % Reinasche angeführt wird, was einen Mittelwert von 5,12 % ergibt. Die Differenzen bei MARGEWICZ sind geringer; es enthielt in Prozenten der Trockensubstanz an Aschenstoffen

	Boletus scaber Bull.	Boletus edulis Bull.	Agaricus controversus Pers.	Lactaria torminosa (Schäff.)	Cantharellus cibarius (Fr.)	Armillaria mellea	Cantharellus aurantiacus Fr.
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Stiel	7,2	6,67	5,91	6,43	8,43	8,81	7,47
Hut	9,14	8,10	9,24	7,37	9,93	10,92	9,79
Oberer Teil d. Hutes	7,97	9,29					9,25
Hymenium . . .	8,75	8,45					10,11

Bei Elaphomyces hirtus fand ISSOGLIO (5) im lufttrockenen kernfreien Peridium 11,83 % Wasser und 2,73 % Asche. Der Kern hatte 12,71 % Wasser und 1,7 % Asche.

Merulius lacrimans enthält nach POLECK 6,33—9,66 % Aschenstoffe. Geoglossum difforme nach CHURCH (6) 13,87 % Aschenbestandteile; ZEGA (7) fand an Aschengehalt der Frischsubstanz bei Lactaria piperata 0,98 % (Wassergehalt 85,7 %) und bei Coprinus comatus 0,49 % (Wassergehalt 94,31 %). Das als Pachyma cocos bekannte Scleruotim enthält nach KELLER (8) 3,64 % Asche. Im Mutterkornsclerotium fand HEINRICH (9)

1) Mineralische Bestandteile der Pilze: H. FISCHER, Lafars Handb. techn. Mykol., *1*, 222; Pilzanalysen: H. T. F. RHODES, Chem. News, *109*, 28 (1914). — 2) A. v. LÖSECKE, Arch. Pharm. (1876), p. 133. — 3) RUBNER, Arch. f. An. u. Phys., 1915, p. 286. — 4) MARGEWICZ, Just (1885), I, 85; STROHMER, Chem. Zentr. (1887), p. 165. — 5) ISSOGLIO, Gazz. chim. ital., *47*, 31 (1917). — 6) A. H. CHURCH, Journ. of Bot. (1875), p. 169. — 7) A. ZEGA, Chem. Zentr. (1902), I, 362. — 8) J. L. KELLER, Amer. Journ. Pharm. (1876), p. 553. — 9) R. HEINRICH, Jahresber. Agr. Chem. (1894), p. 228.

3,417 % Reinasche. Die von PARSONS (1) untersuchten Sporen von Ustilago Maydis enthielten 5,47 % Gesamtasche.

Zur Illustration, wie sich die Gesamtasche auf die einzelnen Bestandteile verteilt, mögen folgende Zahlenangaben dienen (in Prozenten der Gesamtasche ausgedrückt).

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
Boletus edulis Bull. (2) . .	57,76	0,87	5,95	2,41	0,98	26,08	8,42	—	3,55
„ luteus L. (2) . . .	58,10	3,99	—	—	0,53	21,74	—	—	—
„ scaber Bull. (2) . .	56,09	1,65	—	—	1,11	20,27	—	—	—
Claviceps purpurea (3) . .	35,52	1,28	0,98	6,32	1,01	50,56	0,14	—	—
Polyporus officinalis (4) . .	24,80	2,81	2,27	9,69	—	21,56	2,53	2,33	4,33
Tuber cibarium (5)	25,15	1,10	9,40	0,20	3,20	30,25	4,65	10,0	0,2
Polysaccum pisocarpium (6)	54,34	3,45	0,11	2,30	0,94	21,43	2,31	1,63	1,04

Nach HAENSELS Analysen (7)

	in Proz. der Trockensubstanz			in Proz. der Asche	
	Asche	P_2O_5	Fe_2O_3	P_2O_5	Fe_2O_3
„Pfifferling" Cantharellus cibarius	9,828	0,8798	0,134	8,954	1,3614
„Ziegenbart" Clavaria botrytes Pers. oder Clavariella formosa (Pers.)	6,4	0,8926	0,038	13,915	0,5935
„Steinpilz" Boletus edulis Bull. .	5,62	1,0329	0,012	18,379	0,2135

Bei Amanita muscaria fanden HEINISCH und ZELLNER (8) die Asche sehr kalireich (41—44%), reich an P_2O_5 (20,77—23,13%) und Chlor (6,41—6,88%), aber arm an Kalk (0,21—0,53%), wie in den meisten voranstehenden Beispielen. Die Asche von Peridium und Kern bei Elaphomyces hirtus ist nach ISSOGLIO (9) reich an K und PO_4, enthält wenig Mg, Ca, Si und SO_3. Ähnlich scheint es nach ZELLNER (10) bei den Aschenstoffen von Panus stypticus. Über KCl-Gehalt verschiedener Pilze Angaben bei BOURQUELOT (11). An sonstigen Aschenstoffen wurde Mangan öfters gefunden: in Lactaria piperata durch BISSINGER (12), von CHATIN (13) in Tuber cibarium und Terfezia, von FRITSCH (14) bei Boletus edulis, Polysaccum pisocarpium und Cantharellus cibarius. Der letztgenannte Autor fand bei diesen Pilzen übrigens auch Spuren von Lithium und Kupfer auf, ferner etwas Tonerde. 15,66 % der Asche wurden an Tonerde in Bovista gigantea von NETTLEFOLD (15) gefunden. Jod soll nach CHATIN in Spuren in Tuber und Terfezia enthalten sein. — An Arsen fanden JADIN und ASTRUC (16) pro 100 g Trockensubstanz bei Pratella campestris 0,006 mg, bei Tuber melanosporum 0,020 mg.

Die Veränderungen im Gehalte an Aschenstoffen während des Entwicklungsganges sind bei Pilzen wenig untersucht. FISCHER hat bei seinen erwähnten Studien Cantharellus cibarius in drei Entwicklungsstadien analysiert, und konnte feststellen, daß die Trockensubstanz von

1) H. B. PARSONS, Pharm. Journ. (1882), p. 810. — 2) N. SOKOLOFF, Just (1873), p. 597. — 3) R. HEINRICH, Jahresber. Agr. Chem. (1894), p. 228. — 4) SCHMIEDER, Arch. Pharm., *224*, 641 (1886). — 5) CHATIN, Compt. rend., *110*, 376 (1890). Andere Analysen: WOLFF, *1*, 134; *2*, 109. — 6) R. FRITSCH, Arch. Pharm. (1889), p. 193. — 7) E. HAENSEL, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909). — 8) W. HEINISCH u. J. ZELLNER, Monatsh. Chem., *25*, 537 (1904). — 9) ISSOGLIO, Gazz. chim. ital., *47*, 31 (1917). — 10) J. ZELLNER, Sitz.ber. Wien. Ak., IIb, *126*, 183 (1917). — 11) E. BOURQUELOT, Bull. Soc. Mycol. (1894), p. 88. — 12) BISSINGER, Arch. Pharm. (1883), p. 321. — 13) CHATIN, l. c. u. p. 435; ebenda, *114*, 46. — 14) R. FRITSCH, Arch. Pharm. (1889), p. 193. — 15) F. NETTLEFOLD, Chem. News, *55*, 191 (1887). — 16) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *154*, 893 (1912).

10,33% zu 9,21% und 8,94% abnahm, während der Aschengehalt von 9,99% zu 10,4% und 10,5% zunahm, was zum Teil auf die Trockensubstanzabnahme und den Verlust an organischem Material zu beziehen ist. Zuletzt trat eine geringe Abnahme an P_2O_5 ein von 13,1% auf 12,08%. Der Kaligehalt nahm hingegen merklich zu von 58,99% auf 60,31%. Nach IWANOW (1) dürfte die im Hute der Agaricineen vorhandene Phosphorsäure wesentlich in organischer Bindung vorliegen, während im Stiel sich sowohl anorganische Phosphate als organisch gebundene PO_4 nachweisen lassen. Die Verhältnisse von „Extrakt-P" und Protein-P bei Aspergillus prüften KOCH und REED (2); diese Autoren halten den Nuclein-P für die wichtigste Form des P in der Zelle, die nur im außergewöhnlichen Hungerzustande vermindert wird. Die nächst wichtige Form ist der Lecithinphosphor. Aspergillus niger enthält 68% seines Phosphors als „Extraktiv-P", 29% als Protein-P und 3% als Lecithin-P.

§ 4.

Resorption von Aschenstoffen durch Bacterien.

Die hochgradigen Differenzen und oft einzigartigen Kontraste, denen wir bei den einzelnen Gruppen und Lebensgenossenschaften der Bacterien auf dem Gebiete der Ernährungslehre begegnen, treten ebenso sehr in der Versorgung und Ausnutzung der Mineralstoffe hervor, wie hinsichtlich der Kohlenstoffverbindungen. Hier ist der ohne Beispiel in der Organismenwelt dastehenden Erscheinung zu gedenken, daß bei den Eisenbacterien und Schwefelbacterien nicht organische Substanzen als Substrat der Oxydation und Energiegewinnung dienen, sondern anorganische Ferrosalze, bzw. Schwefelwasserstoff. Für solche Bacterien spielt naturgemäß Eisen oder Schwefel eine ganz andere Rolle, ungleich tiefer eingreifend als bei anderen Organismen, und es mögen derartige Anpassungserscheinungen, von denen wir wahrscheinlich nicht alle kennen, dafür zur Lehre dienen, wie mißlich es ist, aus einigen Versuchen Schlüsse auf Bedarf an bestimmten Mineralstoffen, und auf bestimmte Funktionen von Verbindungen der einzelnen Grundstoffe im Organismus in allgemeinerer Weise zu ziehen.

Schon PASTEUR (3) bemühte sich, für die Essiggärungsbacterien die unbedingt nötigen mineralischen Nahrungsbestandteile zu definieren, und meinte Kali, Magnesia, Kalk, ferner Phosphor in Form von Phosphorsäure seien unbedingt nötig, hingegen Schwefel nicht. HOYER (4) hat in neuerer Zeit diese Frage studiert, mit den abweichenden Ergebnissen, daß der Schwefel in die Zahl der unentbehrlichen Grundstoffe einzureihen sei, während der Kalk aus der Zahl der nicht entbehrlichen Elemente gestrichen werden kann. 1872 stellte F. COHN (5) fest, daß die von ihm als „Bacterium termo" zusammengefaßten saprophytischen Bacterienformen trefflich mit Mineralstoffen versorgt sind, wenn man ihnen die von A. MAYER für Hefe angegebene Mischung: enthaltend 0,1 g phosphorsaures Kali, 0,1 g schwefelsaure Magnesia, 0,01 g dreibasisch phosphorsauren Kalk auf 20 g destilliertes

1) L. IWANOW, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 363 (1901). — 2) W. KOCH u. H. S. REED, Journ. biol. Chem., *3*, 49 (1907). — 3) L. PASTEUR, Études sur le vinaigre (1868). Auch W. v. KNIERIEM u. A. MAYER, Landw. Vers.stat., *16*, 314 (1873). — 4) HOYER, Zentr. Bact., II, *3*, 873 (1898). — 5) F. COHN, Beitr. Biol. d. Pfl., *1*, 196 (1872).

Wasser darreicht; zugleich zeigte COHN, daß das Wachstum der Bacterien nur sehr gering ist, wenn die genannten Aschenstoffe nicht zugesetzt werden. Für harnstoffvergärende Bacterien konnte v. JAKSCH (1) analoge Resultate feststellen. NÄGELI (2) betrat neue Wege der Forschung, als er daran ging, nicht nur qualitative Variationen der mineralischen Nahrung unter Weglassung und Zufügung einzelner Salze anzubringen, sondern auch das quantitative Mischungsverhältnis der Mineralstoffe in seinem optimalen Punkte sicherzustellen. NÄGELI empfahl bei geringem Bedarf der Mikroben an organischer Nahrung folgende Nährlösung: Wasser 100, weinsaures Ammon 1, K_2HPO_4 0,1, $MgSO_4$ 0,02, $CaCl_2$ 0,01; verlangen die Bacterien eine bessere C- und N-Quelle, so tritt folgende Nährlösung an die Stelle der ersten: Wasser 100, Eiweißpepton 1 (statt dessen auch Rohrzucker 3 Teile, Ammontartrat 1 Teil); K_2HPO_4 0,2; $MgSO_4$ 0,04; $CaCl_2$ 0,02. Letztere Gewichtssätze sollen für pathogene Arten auf $^2/_3$ oder $^1/_2$ herabgesetzt werden. Aus der Beobachtung NÄGELIS, daß Nährlösungen, welche Kali, Rubidium- oder Caesiumsalz enthalten, sich rascher und viel stärker nach Impfung mit Spaltpilzen trüben, als Nährlösungen, denen alle drei genannten Grundstoffe mangeln, werden wir heute nicht mehr direkt auf eine Ersatzfähigkeit dieser Metalle untereinander schließen, wie es NÄGELI tat, da in diesen Versuchen außerordentliche Vorsichtsmaßregeln zur Ausschaltung an Kalisalzspuren noch fehlten. Nach den letzten Untersuchungen an Bacill. fluorescens, pyocyaneus und chitinovorus durch BENECKE (3) bleibt kein Zweifel, daß das Kali durch kein anderes Alkalimetall ersetzt werden kann. Es gelang auch festzustellen, daß mindestens 0,0001 mg Kaliumsulfat in 100 ccm Nährlösung vorhanden sein muß, wenn Bac. fluorescens wachsen soll. Hingegen ist es nach BENECKE richtig, daß Rubidium und Caesium in höheren Konzentrationen Kalispuren ersetzen können. Darin liegt eine gewisse Bestätigung der früheren Angaben von O. LOEW (4) über die Vertretbarkeit von K- durch Rb-Salze. Auf parallele Beobachtungen von BENECKE und GÜNTHER (5) an Schimmelpilzen wird noch zurückzukommen sein. Zweifellos waren aber die von KAPPES geäußerten Ansichten, wonach K-Salze durch Na-Salze und Mg-Salze durch Ca-Salze völlig bei Bacterien ersetzt werden können, durch ungenaue Versuchsanstellung bedingt. Die von BENECKE geprüften Mikroben waren ohne Mg absolut nicht zum Wachstum zu bringen und Ca konnte Mg nicht ersetzen. Für Bac. prodigiosus fand SAMKOW (6), daß die Pigmentausbildung bei Nichtdarreichung von $MgSO_4$ in der NÄGELIschen Nährlösung unterbleibt. Daß sich dieses Bacterium (wenn auch pigmentlos) bis zu einem gewissen Grade ohne Mg-Darreichung entwickelt, könnte auf die Anwesenheit von Spuren von Mg-Verbindungen beruhen. Ebenso wird sich möglicherweise die Beobachtung von HEFFERAN (7) erklären, daß Bac. ruber indicus auf Asparagin-Nährboden ohne Mg-Salzzusatz normal gedeiht. Mit BENECKES Befunden stimmen die von SAUTON (8) an Bac. tuberculosis gesammelten Erfahrungen überein, die zeigten, daß Kali durch kein Leichtalkalimetall ersetzt werden kann, daß ferner Mg, S und Fe nötig, hingegen Ca, Mn, Zn und Cl entbehrlich sind. Hingegen sind die entgegengesetzt lautenden Angaben von LOEWENSTEIN (9) über Kultur

---

1) R. v. JAKSCH, Ztsch. physiol. Chem., *5*, 395. — 2) C. NÄGELI, Untersuch. üb. nied. Pilze (1882), p. 55, 66, 68. — 3) W. BENECKE, Botan. Ztg., *65*, I, 1 (1907). — 4) O. LOEW, Botan. Zentr., *74*, 202 (1898). — 5) W. BENECKE, Botan. Ztg., *54*, I, 97 (1896). Jahrb. wiss. Botan., *28*, 487 (1895); GÜNTHER, Dissert. Erlangen (1897). — 6) S. SAMKOW, Zentr. Bakt., II, *11*, 305 (1903). — 7) M. HEFFERAN. Ebenda, p. 523 (1904). — 8) B. SAUTON, Compt. rend., *155*, 860 (1912). — 9) E. LOEWENSTEIN, Zentr. Bakt., I, *68*, 591 (1913).

von Tuberkelbacillen auf einem Substrat, das nur Glycerin und Ammoniumphosphat enthält, sowie über die Entbehrlichkeit von K und S nicht wahrscheinlich. LOCKEMANN (1) fand auch für Tuberkelbacillen PO_4, K und Mg unbedingt nötig, Ca aber entbehrlich. Bezüglich SO_4 konnten sichere Ergebnisse nicht erzielt werden. Für Azotobacter chroococcum scheint die Notwendigkeit von Kali und Phosphorsäure gleichfalls außer Frage zu stehen. Diese Mikrobe braucht nach H. KRZEMIENIEWSKA (2), um 1 g Glucose assimilieren zu können, 0,38 mg K; 0,36 mg Ca; 0,35 mg Mg; 2,46 mg P und mehr als 0,49 mg S. KASERER (3) hält dafür, daß Azotobacter wie andere Bacterien außerdem einen gewissen Bedarf an Eisen und Tonerde verlangt. Darreichung von Phosphaten in künstlichen Bacterienkulturen besitzt außer dem direkten Nähreffekt auch noch darin Bedeutung, daß die als Stoffwechselprodukte auftretenden Säuren durch Pufferwirkung neutralisiert werden, und Ansäuerung vermieden wird (4).

Wenn nach FRAENKEL (5) verschiedene Bacterien durch Zusatz von Magnesiasulfat oder Calciumchlorid in ihrem Wachstum gehemmt werden, so ist wohl an den in der Mikrobiologie erst in neuerer Zeit beachteten Ionen-Antagonismus zu denken. Auch KRZEMIENIEWSKA beobachtete, daß Azotobacter durch Kali, Natron, Magnesia im Überschuß geschädigt wird, und daß Calcium diese Wirkung paralysiert. Besonders klar gehen diese Verhältnisse aus den Untersuchungen von LIPMAN (6) hervor. Der Ammonisation erregende Bacillus subtilis, wie auch die Nitrifikationsmikroben werden im Wachstum durch hinreichend konzentrierte reine Salzlösungen ungünstig beeinflußt, und zwar in aufsteigender Folge durch Na, K, Mg und $CaCl_2$. Dabei besteht ein ausgesprochener Antagonismus zwischen Ca und K sowie Mg und Na. Mg und Ca verstärken sich, wenn sie zusammen dargereicht werden, ebenso K und Na. Es ergab sich, wie zu erwarten, auch, daß für die erwähnten Bacterien Seewasser ebenso eine physiologisch äquilibrierte Lösung darstellt, wie für Algen und Tiere.

Unter bestimmten Ernährungsbedingungen soll für Prodigiosus nach SAMKOW Chlor nötig sein. Doch ist Cl für das Gedeihen der Bacterien sonst entbehrlich, wie PROSKAUER und BECK (7) für den Tuberkelbacillus in allgemeiner Form behauptet haben. Auch der Kalkgehalt der Nährlösung ist gewiß nicht in allen Fällen eine unerläßliche Vorbedingung für eine normale Bacterienvegetation. Dies geht sowohl aus älteren Erfahrungen von O. LOEW (8) hervor, wie aus der von WINOGRADSKY (9) gefundenen Tatsache, daß die Nitrifikationsbacterien in kalkfreiem (und chloridfreiem) Substrat ganz normal wachsen, wie besonders auch aus den Versuchen von BENECKE. Bei Bodenbacterien kann Kalk aber ebensogut als Wachstumsreiz, wie als Säuren bindendes Mittel eine bedeutungsvolle Rolle spielen (10). Nach MILLER (11) erzeugt Darreichung von Ätzkalk zunächst eine Verminderung der Zahl der Bodenbacterien, dann aber eine ungeheure Vermehrung (0,3 bis

---

1) LOCKEMANN, Zentr. Bakt., I, *83*, 420 (1919). — 2) H. KRZEMIENIEWSKA, Anzeig. Akad. Krakau 1910, B, 376. Auch N. K. PILLAI, Dissert. Leipzig 1908; VOGEL, Zentr. Bakt., *32*, 411 (1912). — 3) H. KASERER, Ber. bot. Ges., *28*, 208 (1910). — 4) Vgl. L. J. HENDERSON u. H. B. WEBSTER, Journ. med. Research, *16*, 1 (1907); A. FROUIN, Soc. Biol., *68*, 801 (1910); A. CACHE, Zentr. Bakt., I, *40*, 255. — 5) FRAENKEL, Ebenda, *17*, 32. F. DIENERT, Compt. rend., *140*, 273 (1905). — 6) CHS. B. LIPMAN, Botan. Gaz., *48*, 105 (1909); *49*, Nr. 1 u. 3 (1910). O. LOEW, Ebenda, p. 304 (1910). Für Actinomyceten vgl. MÜNTER, Bact. Centr., II, *44*, 673 (1916). — 7) PROSKAUER u. BECK, Ztsch. Hyg., *18*, 128. — 8) O. LOEW, Flora (1892), p. 390. — 9) WINOGRADSKY, Zentr. Bakt., II, *2* 423 (1896); *5*, 432 (1899). — 10) H. FISCHER, Landw. Vers.stat., *70*, 335 (1909). — 11) W. MILLER Ztsch. Gär.physiol., *4*, 194 (1914).

1,0 % $Ca(OH)_2$). Schon 5 % $Ca(OH)_2$ hemmt das Bacterienwachstum gänzlich. Bemerkt sei, daß durch bacterielle Tätigkeit erhebliche Bildung von $CaCO_3$ hervorgerufen werden kann. Schon der Umsatz von Calciumoxalat im Boden kommt in Betracht (1), vor allem soll aber ausgiebige Bildung von Deposita aus dem Seewasser unter geeigneten Bedingungen stattfinden, als geologisch beachtenswerter Faktor (2).

Eisen dürfte so wie für höhere Pflanzen und Pilze auch für Bacterien nicht ohne Bedeutung zum normalen Gedeihen sein, wie die günstige Wirkung von Eisenspuren bei der Kultur verschiedener Spaltpilze vermuten läßt. Doch sind allgemeine Untersuchungen über diese Frage noch nicht angestellt (3). Auf die Rolle von Eisen und Mangan bei bestimmten Fadenbacterien wird noch zurückzukommen sein. Arsen dürfte durch Bacterien wie durch Pilze in organische Form übergeführt werden, doch scheinen gasförmige Arsenverbindungen nicht entwickelt zu werden (4). Daß tellurigsaure Salze von vielen Bacterien unter Abscheidung von kolloidalem Tellur und unter knoblauchartiger Geruchsentwicklung verarbeitet werden, ist in dem Abschnitte über Reduktion im Dienste der Atmung ausführlich zu besprechen (5). Selenit erleidet die analoge Umsetzung. Eine eigentümliche Sonderstellung nimmt ein von Brenner (6) beobachteter Micrococcus ein, welcher unter Zutritt von Luftsauerstoff Selenit oxydiert. Eine andere Bacterienform wuchs auf Selenid-haltigem Nährboden und unterschied sich nicht vom gewöhnlichen Typus der Aeroben.

Beachtung verdienen jene Mikrobenformen, welche an sehr verdünnte Nährlösungen angepaßt sind; nicht wenige von ihnen vermögen mit den geringen Substanzmengen, welche das destillierte Wasser unserer Laboratorien enthält, trefflich auszukommen. Papenhausen (7) gelang es, 10 Bacterienarten aus verschiedenen Proben destillierten Wassers zu erziehen, doch entwickelten sich hiervon nicht sämtliche weiter, sobald sie in destilliertes Wasser ausgesät worden waren. P. T. Müller (8) isolierte aus destilliertem Wasser 20 Bacterienarten und veranschlagt deren Keimzahl in 1 ccm Wasser mit 100—700000. Eingehend wurden diese Spaltpilzformen in einer Reihe von Vertretern durch E. Kohn (9) ernährungsbiologisch untersucht. Dieselben werden alle durch relativ niedrige Glucosekonzentrationen wirksam gehemmt und es verdient deswegen diese Mikrobenflora die Benennung „saccharophobe Mikroorganismen“. Es ist dies aber keine Wachstumshemmung durch die chemische Natur des Zuckers, sondern hängt vom osmotischen Werte der Nährlösung ab; isosmotische Lösungen von Glucose und NaCl wirken gleich. Für die Aschenstoffe liegen die Wachstumsminima dieser Bacterien ungeheuer tief; so konnte das Minimum für PO_4 (bei den allerdings nicht genügend feinen Methoden) nicht erreicht werden.

Andererseits sind zahlreiche Bacterien dazu befähigt, in Mineralsalzlösungen von relativ sehr hoher Konzentration zu leben bzw. sich konzentrierten Salzlösungen anzupassen. Eine ungeheuere Zahl von solchen Mikroben

1) Vgl. C. T. Gimingham, Journ. Agr. Sci., *4*, 145 (1911). — 2) G. H. Drew, Journ. Chem. Soc., *104*, I, 567 (1913). Bacterielle Fällung von $CaCO_3$: Kellerman u. Smith, Journ. Wash. Ac. Sci., *4*, 400 (1914). Zentr. Bakt., II, *45*, 371 (1916). — 3) Für Bodenbacterien: J. Penkava, Zemed. Archiv 1913, Nr. 1, ref. Zentr. Bakt., *43*, 489. — 4) M. Tonegutti, Boll. Chim. Farm., *48*, 259 (1909). — 5) Telluritreduktion: R. Gloger, Zentr. Bakt., I, *40*, 584 (1906). Gosio, Ebenda, II, 16, 258 (1905); bei Bac. tuberculos.: S. Belfanti, Biochem. Zentr., *14*, 366 (1912). Coligruppe: Davis, Zentr. Bakt., I, *75*, 180 (1914). — 6) W. Brenner, Jahrb. wiss. Bot., *57*, 95 (1916). — 7) O. Papenhausen, Pharm. Ztg., *46*, 1004 (1901). — 8) P. T. Müller, Münch. med. Woch.schr., *58*, 2739 (1912). — 9) Ed. Kohn, Zentr. Bakt., II, *15*, 690 (1905); *17*, 446 (1906); *23*, 126 (1909).

bewohnt das salzreiche Wasser der Weltmeere, und fehlt selbst noch salzreicheren Binnengewässern nicht. Wir fassen solche Formen als halophile Bacterien zusammen (1). Übrigens liegt auch das Salzmaximum für viele Festlands- und Süßwasserbacterien recht hoch. Von den gewöhnlich vorkommenden Keimen sah SPERLICH etwa die Hälfte in 3% NaCl zur Entwicklung kommen; die Anaerobionten der Erde sind am empfindlichsten. KARAFFA-KORBUTT (2) fand Hemmung von B. coli bei 8—9%, von septischen Bacterien bei 10—12% NaCl, und manche Torulaformen wuchsen noch bei 25% NaCl. Konzentrierte NaCl-Lösung tötete in 2—3 Monaten, doch starben sporenhältige Formen selbst nach längerer Einwirkungsdauer nicht ab. Anpassung an konzentrierte Kochsalzlösungen bei Bacterien studierten ferner FREYTAG und HAFKINS (3). LEWANDOWSKY (4) isolierte aus Gartenerde und Kuhkot zwei Mikrobenformen durch Überimpfen in Nährbouillon mit 25% NaCl, welche in dieser Salzlösung relativ gut gediehen. Wenn man die Übergänge zu konzentrierten Salzlösungen nicht allzu schroff gestaltet, läßt sich die Adaptation an osmotisch hochwertige Lösungen noch viel verbreiteter erzielen. Die meisten Bacterien scheinen ausgeprägt „poikilosmotische" Organismen zu sein. Selbst saccharophobe (halophobe) Formen konnten in den Versuchen von E. KOHN an Medien von nicht geringem osmotischen Wert angepaßt werden. Ebenso gelang die Akkommodation wieder zurück zu verdünnten Lösungen anstandslos, sobald stufenweise vorgegangen wurde — allerdings bei saccharophoben Formen leichter als bei den saccharophilen Bacterien. Da nach Feststellungen von A. FISCHER (5) die Plasmolyse von Bacterien selbst noch in 5—10% KNO_3 zurückgeht, so ist anzunehmen, daß sich bei Bacterien die Anpassungsfähigkeit an hohe osmotische Leistungen in ausgedehntem Maße findet. Nach den Erfahrungen von WOLF (6) gedeihen Bacterien auf den gebräuchlichen Nährsubstraten, wenn mindestens 50% Wassergehalt darin geboten ist; bei weiterem Sinken des Wassergehaltes tritt Wachstumshemmung ein.

Eine gänzliche Verschiebung der Aschenstoffbedürfnisse muß natürlich erfolgen, wenn irgendein Bestandteil der mineralischen Nahrung zur Ausübung bestimmter wichtiger Funktionen herangezogen wird, wie zu Oxydationen und Energiegewinnung: Erscheinungen, welche wir von den Nitratbildnern, Denitrifikationsmikroben, Eisen- und Schwefelbacterien kennen. Für Nitrobacter hat die an das Nitrit-Anion gebundene Base naturgemäß eine ganz andere Bedeutung, als für jene Mikroben, welche nicht solche Massen von Alkalinitrit verarbeiten müssen, um ihr Leben zu fristen. Daran ändert es auch nichts, wenn nur das Anion NO_2 aus vollständig dissoziierten Lösungen verarbeitet wird, weil besondere Maßnahmen nötig werden, um die rückbleibenden Kationen unschädlich werden zu lassen, und wahrscheinlich hierzu Gegenreaktionen (Säurebildung) ins Spiel kommen. Für die Salpetergärung ist das Ansteigen der Alkalescenz nachgewiesen (vgl. Bd. II, p. 177). Nach anderen Richtungen hin muß die Heranziehung

---

1) Vgl. A. LE DANTEC, Soc. Biol., *58*, 139 (1906). Bacterien der Salzbergwerke: NAMYSLOWSKI, Bull. internat. Acad. Cracovie 1913, p. 88; 1914, p. 526. Great Salt Lake: KELLERMAN u. SMITH, Zentr. Bakt., II, *45*, 371 (1916). Borhaltige Wässer: BARGAGLI-PETRUCCI, Nuov. Giorn. bot. ital., *20*, (1913). Salztoleranz: SPERLICH, Zentr. Bakt., II, *34*, 406 (1912). Morpholog. Wirkungen salzhält. Medien: COUPIN, Compt. rend., *160*, 443 u. 608 (1915). — 2) K. v. KARAFFA,-KORBUTT, Ztsch. Hyg., *71*, 161 (1912). — 3) C. J. DE FREYTAG, Chem. Zentr. (1890), II, 449. HAFKINS, Ann. Inst. Pasteur, *4*, 363 (1890). — 4) F. LEWANDOWSKY, Arch. Hyg., *49*, 47 (1904). — 5) A. FISCHER, Jahrb. wiss. Botan., *27*, 151 (1895). Über in NaCl-Lösung lebende Bacterien auch WEHMER, Zentr. Bakt., II, *3*, 209 (1897). — 6) L. WOLF, Arch. Hyg., *34*, 200 (1899).

von Ferrosalzen zu vitalen Oxydationsprozessen bei den an anderer Stelle eingehend zu besprechenden Eisenbacterien Bedeutung besitzen (1). Wie MOLISCH (2) zuerst festgestellt hat, werden auch Manganosalze in analoger Weise benutzt, entweder von Eisenbacterien selbst oder von verwandten teilweise noch nicht unterschiedenen Bacterienarten. SÖHNGEN (3) hat zuletzt die Prozesse von Oxydation der Manganosalze und der Reduktion der Manganisalze durch Bacterien ausführlich behandelt. Die von JACKSON und anderen Forschern berührte angeblich bedeutungsvolle Rolle der Tonerde bei gewissen Bacterien bedarf noch näherer Untersuchung. Endlich wissen wir, welche verschiedenartige und hochbedeutsame Rollé Schwefelverbindungen im Getriebe des Stoffwechsels mancher Bacterienformen zukommt (4). Während die Beggiatoa-Arten SH_2 zu S und SO_4 in ihrem Organismus oxydieren, und die bei diesem Verbrennungsprozesse gelieferte Energie ausnützen, reduzieren andere, und zwar anaerobe Bacterien Sulfate zu SH_2 und versorgen sich hierdurch mit dem nötigen Sauerstoff. Daß diese Prozesse den Aschenstoffwechsel in ganz andere Bahnen lenken müssen als wir sie bei den täglich zu beobachtenden aeroben Organismen kennen, ist schon jetzt, da wir noch keinen hinreichenden Einblick in die Eigenart dieser Vorgänge besitzen, eine kaum anzuzweifelnde Sache.

Wenn wir in den voranstehenden Darlegungen voraussetzten, daß die dargebotene Mineralstoffnahrung in Form löslicher Verbindungen vorgebildet ist, so haben wir noch hinzuzufügen, daß für die Bacterien zahlreiche Möglichkeiten bestehen, sich durch Vermittelung von Lebensprozessen auch unlösliche Mineralstoffe zugänglich zu machen. A priori dürfen wir an die von Bacterien erzeugte Kohlensäure und an deren lösende Wirkungen auf Erdalkaliphosphate denken, nicht weniger an die so häufig produzierten organischen Säuren. Tatsächlich sind derlei Lösungsprozesse bekannt. KAUFMANN (5) hat für die Choleravibrionen nachgewiesen, daß unlösliche, ihrem Nährboden zugesetzte Erdalkaliphosphate in gewissem Grade resorbiert werden. Die Zersetzung von Knochenmehl durch Bodenbacterien hat STOKLASA (6) zuerst verfolgt. Nach GLECKEL (7) hängen diese lösenden Wirkungen von dem Grade der bacteriellen Säureproduktion ab. Der pathogene Bac. osteomyelitidis Henke verarbeitet nach OLGA GRIGORIEW-MANOILOW (8) Knochenmehl und löst Calciumphosphat am besten bei Luftabschluß. Besonderes Interesse haben diese Erscheinungen für die Aufklärung der Mobilisierung unlöslicher Phosphate im Ackerboden erlangt (9). Wenn auch an der Wichtigkeit derartiger mikrobiologischer Vorgänge im Boden nicht gezweifelt werden kann, so ist damit nicht gesagt, daß mi-

---

1) WINOGRADSKY, Botan. Ztg. (1888), p. 261. H. MOLISCH, Die Pflanze in ihrer Beziehung zu Eisen, Jena 1892; Ber. deutsch. bot. Ges., *11*, 73 (1893); Die Eisenbakterien, Jena 1910. Übersicht: RULLMANN, in Lafars Handb. techn. Mykol., *3*, 193. — Eisenerze und Manganerze biologischen Ursprungs: H. POTONIÉ, Naturw. Woch.schr. (1906), p. 161, 411. — 2) H. MOLISCH, Die Pflanze in ihrer Bezieh. zu Eisen (1892), p. 60. — Manganbacterien: D. JACKSON, Chem. Zentr. (1902), II, 145; C. A. NEUFELD, Ztsch. Unters. Nahr. Gen.mittel, *7*, 478 (1904). R. ADAM, Biochem. Zentr., *5*, 106 (1905). Vielleicht sind die von HELBIG, Naturw. Ztsch. Forst- u. Landw., *12*, 385 (1914) erwähnten knolligen Manganabscheidungen ebenfalls bacteriellen Ursprunges. — 3) N. L. SÖHNGEN, Zentr. Bakt., II, *40*, 545 (1914). — 4) Schwefelbacterien: OMELIANSKY in Lafars Handb., *3*, 214. H. C. JACOBSEN, Folia microbiol., *3* (1914). Thiosulfatzersetzung: R. LIESKE, Ber. bot. Ges., *30*, p. (12) (1912). Morphologie: G. HINZE, Ebenda, *31*, 189 (1913). — 5) R. KAUFMANN, Dissert. Heidelberg (1898). — 6) J. STOKLASA, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *4*, 10 (1901). — 7) D. GLECKEL, Zentr. Bakt., I, *52*, 318 (1909). — 8) O. GRIGORIEW-MANOILOW, Biochem. Ztsch., *11*, 493 (1908). — 9) Allgemeines: DE GRAZIA u. CERZA, Zentr. Bakt., *21*, 543 (1908); R. PEROTTI. Ebenda, *25*, 409 (1909); DE GRAZIA, Ann. Staz. Sper. Agr. Roma, *3*, 203 (1910); C. LUMIA, Acc. Linc. Rom. (5), *23*, I, 738 (1914).

krobische Tätigkeit im Boden in ihrer Resultante immer eine Vermehrung leicht löslicher Phosphate zur Folge haben muß, und besonders SEWERIN (1) hat dargetan, daß der biologische Prozeß selbst zu einer Verminderung der leicht löslichen Bodenphosphate führen kann, was bei der praktischen Würdigung nicht außer Acht zu lassen ist. Im übrigen wurde mehrfach bacterielle Säureproduktion als lösendes Agens für die Bodenphosphate angesprochen (2), und man wird kaum fehl gehen, auch den fördernden Einfluß von Kohlenhydraten auf bacterielle Phosphataufschließung (3) mit einer vermehrten Säurebildung in Beziehung zu bringen. Daß aber analoge Wirkungen auch bei Anwesenheit „physiologisch saurer" Salze, wie Ammoniumsulfat, ohne direkte Säureerzeugung, jedoch durch Rückbleiben der wenig verbrauchten Anionen zustande kommen kann, ist gleichfalls von verschiedenen Forschern hervorgehoben worden (4). STOKLASA (5) scheint wiederum der in der Bacterienatmung produzierten CO_2 den Hauptanteil an dem Lösungseffekt zuzuschreiben; doch sind die Beziehungen zwischen Keimzahl des Bodens und Intensität der Phosphatlösung keineswegs so einfache, um diese Auffassung genügend zu rechtfertigen. Bemerkt sei, daß nach DE GRAZIA und CERZA (6) nicht nur Bacterien, sondern auch Schimmelpilze den Übergang unlöslicher Phosphate in lösliche Formen bedeutend fördern. Während im pilzfreien Versuch zuletzt 62,62% des Phosphates ungelöst geblieben waren, betrug der Anteil in Versuchen mit Aspergillus niger nur 25,53 %, mit Penicillium glaucum 34,08%, mit Pen. brevicaule 21,81 %. PANTANELLI (7) versuchte durch Messung des elektrischen Leitungswiderstandes des Bodenextraktes die aufschließende Bacterienwirkung zu verfolgen, wobei Kontrollversuche mit Chloroformzusatz, mit und ohne Glucosezusatz angestellt wurden, es ergab sich meist, doch nicht immer, Abhängigkeit vom Keimgehalte des Bodens. Erwähnt sei auch die aufschließende Tätigkeit von Bacterien bei organischen Phosphorverbindungen, von denen das Phytin in seiner bacteriellen Spaltung durch H. KRZEMIENIEWSKA (8) studiert wurde; am raschesten findet die Spaltung bei einem Phytingehalte des Substrates von 0,3% statt. Inosit wird stets gebildet, Kohlenhydratzusatz hemmt.

Nach DE GRAZIA und CAMIOLA (9) nehmen Bodenbacterien auch Kali aus Leucit auf. Die landwirtschaftlich gleichfalls sehr wichtige Silicataufschließung durch Bacterien wurde durch BASSALIK (10) besonders eingehend untersucht. Am stärksten wirksam erwies sich ein neu isoliertes Bodenbacterium, Bacillus extorquens. Derselbe greift Magnesia- und Kaliglimmer lebhaft an wobei offenbar die durch die Lamellenbildung bedeutend vergrößerte Oberfläche dieser Mineralien fördernd wirkt. Orthoklas ist am schwersten löslich. Immer ist aber der innige Kontakt zwischen Mineralpartikeln und Bacterienzellen von großer Bedeutung. Auch organische Säuren können den Prozeß unterstützen. Nach STUTZER und HARTLEB (11) soll

1) S. A. SEWERIN, Zentr. Bakt., II, *28*, 561 (1910); *32*, 498 (1912). — 2) SANTE DE GRAZIA, Arch. Farm. Sper., *8*, 436 (1909); A. KOCH u. E. KRÖBER. Fühlings landw. Ztg., *55*, 225 (1906); E. KRÖBER, Journ. f. Landw., *57*, 5 (1909). — 3) A. DUSCHETSCHKIN, Russ. Journ. exp. Landw., *12*, 650 (1911); vgl. auch S. HERKE, Bot. Zentr., *135*, 398 (1915). — 4) R. PEROTTI, Acc. Linc. Rom. (5), *17*, I, 448 (1908). — 5) J. STOKLASA, Zentr. Bakt., II, *29*, 385 (1911). — 6) SANTE DE GRAZIA u. U. CERZA, Arch. Farm. Sper., *6*, 6 (1907). — 7) E. PANTANELLI, Zentr. Bakt., II, *42*, 439 (1914). — 8) H. KRZEMIENIEWSKA, Kosmos, *38*, 1438, Lemberg 1913. — 9) SANTE DE GRAZIA u. G. CAMIOLA, Staz. Sper. Agr. Ital., *39*, 829 (1906). Über die behauptete Festlegung von Kali durch Bodenbacterien vgl. KYROPOULOS, Ztsch. Gär.phys., *5*, 161 (1915). — 10) K. BASSALIK, Ebenda, *2*, 1 (1912); *3*, 15 (1913). — 11) A. STUTZER u. R. HARTLEB, Botan. Zentr., *87*, 85 (1901); Chem. Zentr. (1899), I, 1249.

bacterielle Silicatzersetzung bei Zerstörungen von Zement in Wasserbauten in Frage kommen. — Azotobacter nimmt nach KASERER (1) nicht kolloide Schwermetallsilicate auf. Sehr ungewiß ist es, ob man mit ROHLAND (2) auf Mikrobenmitwirkung bei der Kaolinisierung auf Grund des Geruches von Ton schließen darf.

Die Förderung des Bacterienwachstums in sterilisiertem Boden führt H. FISCHER (3) nicht so sehr auf chemische Aufschließung, als auf die Darbietung der Körpersubstanzen zahlreicher abgetöteter Bodenorganismen zurück.

§ 5.
Resorption von Aschenstoffen bei Sproßpilzen.

PASTEUR (4) hat zuerst bewiesen, daß Hefe ohne Gegenwart von Aschenstoffen einer Zuckerlösung in geringer Menge zugesetzt, nicht imstande ist, Gärung in nachweisbarem Grade hervorzurufen. Durch Hinzufügung eines Quantums Hefeasche konnte PASTEUR sofort Wachstum und Gärtigkeit in dieser Probe einleiten. Welche Bestandteile der Hefeasche diese unerläßige Vorbedingung für Hefewachstum und Gärung bilden, hat 1869 A. MAYER (5) näher festgestellt; auf Grund genauer analytischer Erfahrungen über die Zusammensetzung der Hefeasche gelang es ihm, ein künstliches Salzgemisch herzustellen, welches die Hefeasche völlig ersetzt, aus dem aber kein Bestandteil ohne Verlust der Wirksamkeit weggelassen werden darf. Die Mischung bestand aus 0,1 g KH_2PO_4, 0,01 g $Ca_3(PO_4)_2$, 0,1 g $MgSO_4$ auf 20 ccm Wasser. Füı K, PO_4, SO_4, Mg konnte MAYER völlige Unentbehrlichkeit dartun; Kalk fand er zwar entbehrlich, doch günstig wirkend; Eisen hielt MAYER nicht für unbedingt nötig. Im wesentlichen waren diese Resultate richtig; mit einer kleinen Modifikation hinsichtlich der Bedeutung des Eisens können wir sie heute noch als gültig ansehen. Durch Weglassung eines bestimmten Stoffes aus der MAYERschen Mischung tritt Störung von Wachstum und Gärtigkeit ein. Wie empfindlich die Reaktion auf Zufügen der kleinsten Mengen des fehlenden Stoffes sein kann, hat VILLE (6) sehr lehrreich dadurch erwiesen, daß schon ein Zusatz von 0,0005 g PO_4 auf 1000 ccm Gärflüssigkeit hinreicht, um in der phosphorsäurefreien Lösung merkliche Alkoholgärung anzuregen. Nach LINOSSIER (7) ist der relative Nährerfolg bei Weglassung eines einzelnen Elementes in der Nährlösung für Oidium lactis durch folgende Zahlen auszudrücken: Bei Fortlassung von

Phosphor	0,0	Zink	94	Mangan	438	Chlor	515
Kali	8	Eisen	119	Silicium	488	Natrium	518
Magnesium	18	Schwefel	119	Kalk	491	Vollständ. Nährlös.	515

Die Nährlösung enthielt Glycerin und Urin als C- und N-Quelle. Die Zahlen sind mg Erntegewicht nach 12 tätiger Kultur in 50 ccm Nährlösung.

1) H. KASERER, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *14*, 97 (1911). — 2) P. ROHLAND, Biochem. Ztsch., *39*, 205 (1912). — 3) H. FISCHER, Zentr. Bact., *22*, 671 (1909). — Biolog. Bedeutung der physikal.chem. Bodenbeschaffenheit: G. GOLA, Annali di Botan., *3*, 455 (1906). — 4) L. PASTEUR, Ann. Chim. et Phys. (3), *58*, 388. — 5) A. MAYER, Untersuch. üb. die alkohol. Gärung (1869), p. 16. Übersicht: LAFAR, Handb. techn. Mykol., *4*, 83. TH. BOKORNY, Zentr. Bakt., *16*, 239 (1905). Ferner PRINGSHEIM, Ebenda, p. 111; F. SCHÖNFELD, Woch.schr. Brau., *31*, 245 (1914). — 6) G. VILLE, Compt. rend., *111*, 158 (1890). — 7) G. LINOSSIER, Compt. rend. Soc. Biol., *80*, 433 (1917).

Im Anschlusse an seine übrigen Pilzernährungsversuche glaubte Nägeli (1) auch für die Hefe annehmen zu dürfen, daß Kalisalze erfolgreich durch beliebige andere Leichtmetallsalze substituiert werden können, und daß Ca-, Mg-, Ba-, Sr-Salze einander zu ersetzen vermögen. Dies hat sich jedoch durch die sehr genauen Untersuchungen Winogradskys (1) nicht bestätigen lassen, und auch Bokorny (2) kam zu dem Resultate, daß weder K- noch Mg-Salze durch die Salze eines entsprechenden anderen Metalles vertreten werden können.

Winogradsky arbeitete mit Mycoderma vini, für welchen Sproßpilz schon früher A. Schulz (3) die von Mayer für Bierhefe festgestellten Resultate vollkommen identisch wiedergefunden hatte. Bei Ersatz des Kalisalzes durch das entsprechende Lithium-, Caesium- oder Natriumsalz blieb jede Entwicklung des Pilzes aus; nur Rubidiumsalz war imstande, eine Entwicklung des Mycoderma zu gestatten. Hingegen konnte Magnesiumsalz durch kein anderes Metallsalz ersetzt werden. Kalkzusatz fand Winogradsky nicht unbedingt erforderlich. Die früher nicht hinreichend gewürdigte Tatsache, daß Hefe ohne Darreichung von Kalksalzen zu Wachstum und Alkoholgärung befähigt ist, wurde späterhin durch die Versuche von O. Loew und von Molisch bestätigt (4). Wenn nun auch an der Tatsache, daß sich alle Lebenstätigkeiten der Hefezelle ohne Zutritt von Ca-Salzen ungestört abspielen können, nicht zu zweifeln ist, so sprechen mehrfache in der Praxis gesammelte Erfahrungen (5) entschieden dafür, daß ein Kalkgehalt des Nährsubstrates hervorragend günstigen Einfluß auf die Entwicklung der Hefe nimmt, vielleicht ganz abgesehen von der Säureneutralisation durch $CaCO_3$ (6). Untersuchungen von Kossowicz (7) zeigten, daß Calcium sowohl als Phosphat wie als Chlorid die Vermehrung der Hefe und die Gärtätigkeit wesentlich fördert. Näheres über diese Einflüsse ist nicht bekannt. Die Frage, ob Eisen zu den lebenswichtigen Grundstoffen für Sproßpilze gehört, war vor den Arbeiten von Molisch kaum in Angriff genommen worden. A. Mayer hielt Eisensalze für entbehrliche Aschenbestandteile. Molisch, dem es gelang nachzuweisen, daß man bei Zusatz einer kleinen Menge Eisensalz nahezu das dreifache Erntegewicht gegenüber eisenfrei belassenen Hefekulturen in derselben Zeit erhält, neigte zur Ansicht, daß die Gegenwart kleiner Eisensalzmengen zu den unentbehrlichen Lebensbedingungen der Sproßpilze gehört. Dabei waren allerdings die seither genauer bekannt gewordenen Wirkungen der Fe-Ionen als Wachstumsreiz nicht in Betracht gezogen worden, so daß es immerhin erneuter Überlegung bedarf, ob die aus mehrfachen Gründen naheliegende Ansicht, daß Fe zu den unentbehrlichen Nährstoffen für Hefe zählt, völlig einwandfrei dasteht. Überdies ist es bisher nicht gelungen, vollkommen eisenfreie Hefekulturen zu ziehen. Kossowicz hält aber die Wachstumssteigerung durch Kalkdarreichung für noch intensiver als die Eisenwirkung. Natürlich müßten neue Untersuchungen hierüber mit Reinkulturen definierter Heferassen und gleicher Aussaatquanten arbeiten. Die Rolle von Zink als Wachstumsreiz für Hefe hat Javillier (8) behandelt.

---

1) S. Winogradsky, Arbeit. St. Petersburg. Nat. Ges., *14*, 132 (1884). — 2) Th. Bokorny, Pflüg. Arch., *97*, 134 (1903). Zentr. Bakt., II, *11*, 15 (1903). — 3) A. Schulz, Ann. Önol., *7*, 115 (1877); Just (1877), p. 84. — 4) O. Loew, Flora (1892), p. 390; H. Molisch, Sitz.ber. Wien. Ak., *103*, I, 561 (1894) — 5) Lafar, Techn. Mykologie (1901), p. 530; Handb. d. techn. Mykol., *4*, 85 (1905). — 6) W. Henneberg, Zentr. Bakt., II, *20*, 225 (1908). — 7) A. Kossowicz, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *6*, 731 (1903). — 8) M. Javillier, Recherch. sur la présence et le rôle du zinc chez les vég. Lons le Saunier 1908.

Nicht leicht ist auch die Frage bezüglich der für Hefe lebenswichtigen Schwefelverbindungen zu beantworten, und bereits MAYER fiel es auf, wie schon die geringen als Verunreinigung anderer Nährstoffe anwesenden Mengen von S-Verbindungen geraume Zeit zur Ernährung der Hefe ausreichen, ohne daß ein Sulfatzusatz nötig erscheint. Mit Hilfe der Darreichung des absolut schwefelfrei zu erhaltenden Asparagins hat STERN (1) dieses Thema für Hefe zu prüfen gesucht. Doch steht eine eingehende Feststellung aller jener Bindungsarten, in denen S für Hefe assimilierbar ist, noch aus. Bekannt ist die Deckung des S-Bedarfes aus Sulfaten, Thiosulfaten, Eiweißstoffen. Aus Thiosulfat wird SH_2 und S abgeschieden, worüber Angaben von KOSSOWICZ (2) einzusehen sind; auch BEIJERINCK (3) hat hierüber gearbeitet. Man kann nach NASTUKOFF (4) bei gleichzeitigem Zufügen von basischem Wismutnitrat die Sulfidbildung durch die Schwärzung des weißen Wismutsalzes bequem nachweisen.

Voraussichtlich ist auch Cystein und Cystin zur Schwefelversorgung geeignet. Ob organischer Schwefel und Phosphor unter irgendwelchen Bedingungen für die Hefeernährung Vorteile gegenüber anorganischer S- und P-Nahrung bietet, ist nicht bekannt. Doch steht es für anorganische Phosphate durch die Untersuchungen von IWANOFF und EULER fest (5), daß selbst die ohne Verlust der Gärkraft abgetöteten Hefezellen noch reichlich anorganische PO_4 binden. Hierbei wird wahrscheinlich durch Enzymwirkungen Phosphatbindung eingeleitet. Hefe kann nach LUMIA (6) alle Calciumphosphate ebensogut ausnutzen wie Alkaliphosphate; Thomasschlacke wirkt sehr günstig, Superphosphat wirkt bei Kreidezusatz gut.

Über die Folgen des Eingreifens von Chloriden, Natriumsalzen oder SiO_2 in den Stoffwechsel von Sproßpilzen ist bisher nichts bekannt geworden. Alle diese Substanzen können ohne ersichtliche Wirkungen zugesetzt und entzogen werden. Von künstlichen Nährstoffgemischen fand CHRZACZ (7) eine Lösung aus 10 g Zucker, 0,2 g Mg $(H_2PO_4)_2$, 0,2 g Ca $(H_2PO_4)_2$, 0,2 g K_2SO_4 und 0,5 g Asparagin in 100 g Wasser am günstigsten. Bezüglich der Ernährung von Torula-Formen ist auf die Angaben von WILL (8) hinzuweisen.

Selbstverständlich werden sich auch beim Stoffwechsel der Sproßpilze die Leistungen der einzelnen Bestandteile in der dargereichten mineralischen Nahrung mit der Variation verschiedener Lebensbedingungen qualitativ wie quantitativ ändern können und auch ändern müssen. Doch fehlen hierüber ausreichende experimentelle Erfahrungen. Von dieser Fragestellung aus wäre u. a. zu prüfen, wie der Einfluß konzentrierter Mineralstofflösungen beschaffen ist, ob da ausschließlich osmotische Mehrleistungen und damit zusammenhängende Regulationen in Betracht kommen. Handelte es sich nur um solche, so müßten natürlich in isosmotischen Lösungen verschiedenartiger Substanzen die gleichen Erscheinungen zutage treten. Wie WEHMER (9) gezeigt hat, vegetiert eine Hefeart in Heringslake von 15% Salzgehalt, eine Anpassung, welche bei Bier- und Weinhefen in osmotischer Hinsicht kaum erreicht wird.

---

1) A. L. STERN, Proc. Chem. Soc. (1898), p. 182. — 2) A. KOSSOWICZ u. W. LOEW, Ztsch. Gär.physiol., 2, 78, 87 (1912). — 3) BEIJERINCK, Zentr. Bakt. (II), 6, 194. — 4) NASTUKOFF, Compt. rend., *121*, 535 (1895). — 5) L. IWANOFF, Ztsch. physiol. Chem., *50*, 281 (1906). — 6) G. LUMIA. Rend. Acc. Linc. (5), *23*, I, 738 (1914). H. EULER u. D. JOHANNSSON, Ztsch. physiol. Chem., *80*, 205 (1912). — 7) T. CHRZACZ, Zentr. Bakt., (II), *13*, 149 (1904) — 8) WILL, Ebenda, II, *21*, 386 (1908). — 9) WEHMER, Ebenda, *3*, 209 (1897).

Die bislang an Myxomyceten angestellten Untersuchungen zur Physiologie der Aschenstoffe haben kaum erwähnenswerte Ergebnisse geliefert (**1**).

§ 6.

Die Resorption von Aschenstoffen bei höheren Pilzen.

Noch 1844 hatte MULDER (**2**) die Frage offen gelassen, ob die Pilze zu ihrer Ernährung überhaupt der Darreichung von Aschenstoffen bedürften. Geleitet durch physiologische Erfahrungen an anderen Thallophyten kam man freilich bald nachher zur Ansicht, daß die Aufnahme und Verarbeitung von Mineralstoffen zu den unentbehrlichen Lebensverrichtungen aller Pilzformen gehört. Die ersten exakten Arbeiten über diese Frage waren allerdings erst die Untersuchungen an Aspergillus niger, die RAULIN 1869 anstellte (**3**). Seither ist insbesondere dieser Schimmelpilz, Penicillium und einige andere Formen viel untersucht worden, andere Pilze aber relativ sehr wenig, und es muß dahingestellt bleiben inwieweit wir das Recht haben, die an Aspergillus erzielten Ergebnisse auf das ungeheure Heer verschiedenartiger Organismen, die wir Pilze nennen, verallgemeinernd zu übertragen. Das Gesamtbedürfnis an Aschenstoffen ist anscheinend (soweit die nicht sehr ausgedehnten Erfahrungen reichen) recht verschieden. Sehr auffallend soll nach SCHANDER und FISCHER (**4**) die Anspruchslosigkeit von Phoma betae sein, bei welcher nur ein Fehlen von Phosphaten sich im Erntegewicht bemerkbar macht, während völliges Fehlen von Ca, Mg und S schon durch allfällige spurenweise Beimengungen aus den Präparaten und den Kulturgefäßen gedeckt wird.

Daß der Aschenstoffbedarf der Pilze während der Entwicklung ungleich groß ist, geht aus mehreren Untersuchungen hervor; im Anfange brauchen die jungen Hyphen mehr, später deutlich weniger mineralische Nahrung (**5**).

RAULIN bediente sich bei seinen Versuchen einer empirisch ermittelten kompliziert zusammengesetzten Nährlösung. Dieselbe enthielt:

1500	T.	Wasser	0,6	T.	Kaliumcarbonat
70	,,	Kandiszucker	0,25	,,	Ammoniumsulfat
4	,,	Weinsäure	0,07	,,	Zinksulfat
4	,,	Ammoniumnitrat	0,07	,,	Eisensulfat
0,6	,,	Ammoniumphosphat	0,07	,,	Kaliumsilicat
0,4	,,	Magnesiumcarbonat			

Zum optimalen Wachstum darf nach RAULIN kein einziger dieser Bestandstandteile weggelassen werden. Es entsteht sonst ein Ernteausfall, welcher für die einzelnen Substanzen verschieden groß ist. Es vermindert sich das Erntegewicht nach RAULINS Feststellungen:

---

1) Vgl. J. C. CONSTANTINEANU, Annal. mycol., *4*, 495 (1906). F. BRUCK, Ztsch. allg. Physiol., *7*, 506 (1908). — **2**) MULDER, Physiol. Chem. (1844), p. 402. — **3**) RAULIN, Ann. Sci. Nat. (5), *2*, 224 (1869). Compt. rend., *36*, 229 (1870). Übersicht: W. BENECKE, Lafars Handb. techn. Mykol., *1*, 381. Neuere Lit.: A. W. DOX, Biochem. Bull., *3*, 222 (1914). — **4**) R. SCHANDER u. W. FISCHER, Landw. Jahrb., *48*, 717 (1915). — **5**) WATERMAN, Akad. Amsterdam, Proceed., *19*, 215 (1916); MOLLIARD, Compt. rend. Soc. Biol., *82*, 754 (1919); Einfluß der Menge der Mineralnahrung auf Pilzentwicklung: LINOSSIER, Ebenda, *80*, 433 (1917).

auf $^1/_{153}$	bei	Weglassung	des Ammoniak
„ $^1/_{182}$	„	„	der Phosphorsäure
„ $^1/_{91}$	„	„	des Magnesium
„ $^1/_{25}$	„	„	der Schwefelsäure
„ $^1/_{10}$	„	„	des Zinksalzes
„ $^1/_{27}$	„	„	des Eisensalzes
„ $^1/_{1,4}$	„	„	des kieselsauren Kali

Die daraus berechneten „spezifischen Utilitätswerte“ der einzelnen Substanzen stellen sich dann folgendermaßen dar:

Ammoniakstickstoff	17	Schwefelsäure	346
Kali	64	Zink	953
Phosphorsäure	157	Eisen	857
Magnesium	200	Kieselsäure	320

Von Ammoniak-N sind relativ die größten Quantitäten nötig, von Zink und Eisen die kleinsten. Hervorgehoben sei, daß RAULINS Lösung frei von Kalksalzen war.

Während wir in den Untersuchungen CUGINIS (1), die etwas später angestellt wurden, die Unterscheidung von „unentbehrlichen“ und „entbehrlichen“ Aschenstoffen in Analogie der Feststellungen für Hefe und Bacterien festgehalten finden (CUGINI nennt als unentbehrlich K, Mg, PO_4, Fe, SiO_2) hat RAULIN diese Gruppierung aufgegeben, wohl in der richtigen Erkenntnis, daß eine scharfe Grenze nicht unter allen Umständen hier aufzustellen ist.

In viel schärferer Form und vielfach in neuer Fragestellung nahm NÄGELI unter Mitwirkung von O. LOEW (2) diese Untersuchungen wieder auf. NÄGELI faßte seine Erfahrungen in dem Satze zusammen, daß die Schimmelpilze mit vier Grundstoffen ausreichend ernährt werden: Schwefel, Phosphor, Kalium, welches aber durch Rubidium oder Caesium vertretbar ist, endlich Calcium, welches durch Magnesium, Baryum oder Strontium ersetzt werden kann. An diesen Resultaten sind nun allerdings in der Folge wesentliche Modifikationen angebracht worden. Nachdem WINOGRADSKY für Mycoderma vini die Unentbehrlichkeit von Magnesiumsalzen und die nicht unbedingte Notwendigkeit der Darreichung von Kalksalzen gezeigt hatte, gelangten 1894 BENECKE (3) und MOLISCH (4) in methodisch wesentlich besseren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß Mg ein unentbehrliches Ingrediens für die Nahrung aller untersuchten Pilze darstellt, und weder durch Ca, Be, noch durch ein anderes Metall-Ion ersetzbar ist. Andererseits können aber Kalksalze ohne Schaden aus der Nährlösung fortbleiben, und Schimmelpilze zeigen auf absolut kalkfreiem Substrat vollkommen normales Gedeihen. Diese Erfahrungen wurden von O. LOEW und WEHMER im wesentlichen bestätigt (5). Schwierigere Probleme stellte die Ausforschung, welche Leichtalkali-

---

1) G. CUGINI, Nuov. Giorn. Bot. Ital., *8*, 77 (1876). — 2) C. NÄGELI, Sitz.ber. Münch. Akad. 5. Juli 1879; Untersuch. üb. d. nied. Pilze (1882), p. 52. — 3) W. BENECKE, Ber. bot. Ges., *12*, Gen.Versamml.heft, p. (105), (1894). Botan. Zentr., *60*, 195 (1894). Jahrb. wiss. Bot., *28*, 487 (1895). Botan. Ztg., *54*, I, 97 (1896). — 4) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *103*, I, 554, 11. Okt. 1894. — 5) O. LOEW, Botan. Zentr., *63*, 163 (1895); Pflüg. Arch., *100*, 335 (1903). C. WEHMER, Ber. bot. Ges., *14*, 257 (1895); Beitr. z. Kenntn. einheim. Pilze, *2*, 105 (1895).

metalle von Schimmelpilzen mit vollständigem Erfolge im Stoffwechsel aufgenommen und verarbeitet werden. MOLISCH hatte gemeint, daß Kalisalze durch die Salze keines einzigen anderen verwandten Metalles in ihrer Wirkung ersetzt werden können. Auch GÜNTHER, später BOKORNY (1) hatten diese Ansicht vertreten. Doch hatte schon WINOGRADSKY bei Mycoderma vini beobachtet, daß dieser Pilz bei Substitution des Kalisalzes durch das entsprechende Rubidiumsalz in der Nährlösung ebenfalls Wachstum zeigte, nicht aber bei Substitution des Kali durch Li, Na oder Cs. Kritische Wiederholung dieser Versuche an Schimmelpilzen, wie sie BENECKE vornahm, zeigte nun in der Tat, daß selbst unter Verwendung der allerreinsten Rubidiumpräparate (2) und bei möglichst sicherer Ausschließung von Kalispuren in der Nährlösung, Aspergillus auskeimt und ein ansehnliches Trockengewicht erzeugt; allerdings bringt er keine schwarzen Conidien hervor und zeigt so offenkundigen Mangel an normalen Vegetationsbedingungen. Auch wurde in den Rb-Kulturen starke Oxalsäure-Ansammlung bemerkt. Mit steigender Konzentration wächst die Schädlichkeit der Rb-Salze in hohem Maße. Viel schädlicher aber sind Cs-Salze. Auch die neuen Arbeiten von WATERMAN (3) und von SAUTON (4) haben die Richtigkeit dieser Ergebnisse bestätigt. Nach SAUTON ist das Erntegewicht von Aspergillus bei der Darreichung von Rb an Stelle von K um die Hälfte kleiner, und Cs kann als Nährstoff überhaupt nicht angesehen werden. Aus Gemischen von Rb, Cs und K-Salzen wird K elektiv aufgenommen und es lassen sich so die geringsten Kalispuren aus der Lösung entfernen. WATERMAN findet gleichfalls das Kali teilweise durch Rb ersetzbar und fügt hinzu, daß die Magnesiumwirkung bei Gegenwart von Zink stark erhöht erscheint. WEHMER behauptete, daß bei ausschließlicher Darreichung von Na-Salzen statt K in längerer Zeit ein ansehnliches Pilzerntegewicht erhalten wird. Möglicherweise wirkt Na in ähnlicher Weise Kali-sparend, wie man es bei höheren Pflanzen gefunden hat. In gänzlich kalifreien Na-Kulturen konnte aber BENECKE vielfach kein stärkeres Pilzwachstum beobachten als bei gänzlich alkalifreien Kulturen. Hinsichtlich der bei Kalimangel eintretenden pathologischen Erscheinungen sei auf Beobachtungen von MOLLIARD und COUPIN (5) verwiesen. Bisher wurden bloß Versuche mit K-Ionen angestellt, und es ist über die Wirkung komplexer kalihaltiger Ionen und der organischen molekularen Kaliverbindungen nichts bekannt. Bemerkt sei, daß HERBST (6) für die Entwicklung und Ernährung niederer Tiere die gleichen Gesetzmäßigkeiten bezüglich der Mineralstoffwirkung aufgefunden hat. Worauf die physiologischen Verschiedenheiten der Alkalimetalle beruhen, wissen wir auch nicht andeutungsweise. In manchen Fällen ist es übrigens auch für chemische Reaktionen nicht gleichgültig, ob man KOH oder NaOH verwendet, und auf die bekannten Löslichkeitsdifferenzen von K- und Na-Verbindungen kann man gleichfalls hinweisen. Die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen K, Cs, Rb, Na, Li ist ebenfalls sehr ungleich: K wandert am schnellsten (63,8), ziemlich gleich Cs und $Rb^{\cdot}$, viel langsamer Na (44), noch langsamer $Li^{\cdot}$ (34,7). Jedenfalls spielt auch im Stoffwechsel die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen eine ebenso wichtige Rolle wie bei Reaktionen außerhalb des Organismus.

---

1) TH. BOKORNY, Pflüg. Arch., *97*, 134 (1903). Zentr. Bakt., II, *11*, 15 (1903). — 2) Über Reinigung von Rubidiumsalzen: W. MUTHMANN, Ber. chem. Ges., *26*, 1019 (1893). — 3) H. J. WATERMAN, Kgl. Akad. Amsterdam, 15. Juli 1913. — 4) B. SAUTON, Compt. rend., *155*, 1181 (1912). — 5) MOLLIARD u. COUPIN, Compt. rend. (1903), p. 1695. — 6) C. HERBST, Arch. f. Entwickl.mechan., *5*, 649 (1897).

Wie sehr man sich in der Pilzphysiologie vor vorschnellem Generalisieren hüten muß, zeigen ferner neuere Erfahrungen über die Bedeutung der Kalksalze. Daß für Aspergillus das Ca ohne Bedeutung als Nährstoff ist, haben auch die letzten Untersuchungen von BUROMSKY (1) ergeben, und ROBERT (2) dürfte wohl im Rechte sein, wenn sie die Fixierung des Ca durch diesen Schimmelpilz fast ausschließlich auf die Bindung durch die im Stoffwechsel erzeugte Oxalsäure bezieht. Hierin liegt nicht selten eine wichtige Rolle der Kalksalze, ohne welche das Wachstum bedeutend früher sistiert werden müßte. Für die Hymenomyceten liegen jedoch die Verhältnisse der Bedeutung des Kalks offenbar verschieden, da WEIR (3) für Coprinus die Notwendigkeit der Darreichung von Kalksalzen gezeigt hat, und HORI (4) für Hymenomyceten den Kalk nicht entbehrlich fand. Auch bei einigen von TRAAEN (5) aus Boden isolierten Pilzformen hatte Kalkzufuhr keine unbedeutende Wirkung. Morchella-Arten, die FRON (6) untersuchte (conica, esculenta, vulgaris), brauchten Ca ebenso wie Mg und PO_4 und gediehen in neutralem oder sehr schwach saurem Substrat. Angaben von HÉBERT und HEIM (7) betreffen die Ca- und K-Darreichung in Kulturen von Psalliota campestris. Hingegen scheint nach COLIN (8) Botrytis cinerea gleich Aspergillus Kalk nicht zu brauchen.

Von Interesse ist es zu sehen, wie lebhaft Pilze, denen einer der nötigen Grundstoffe in ihrer Nahrung nicht geboten war, auf minimale Zusätze dieses Stoffes reagieren. Als LOEW nur 0,0003% $MgSO_4$ magnesiumfreien Pilzkulturen zufügte, erreichte er bereits einen ganz ansehnlichen Effekt im Erntegewichte im Vergleich zu 0,1% $MgSO_4$ enthaltenden Kulturen. BENECKE brauchte zu 100 ccm kalifreier Nährlösung nur 0,01—0,02 mg KCl zuzufügen, um die Aussaat des Pilzes, welcher vorher keine Entwicklung gezeigt hatte, zum Wachstum anzuregen. Übrigens scheint nach MEDISCH (9) auch durch verschiedene Chloride, Kaliumchlorat die Farbstoffbildung von Hypocrea rufa (Pers.) in kleinen Gaben (5—12,5 Centimol.) beschleunigt zu werden.

COUPIN (10) stellte fest, daß Mg in Form aller möglichen Salze zur Resorption gelangt, so daß es offenbar auf das Mg-Ion ankommt. Ob auch andere Formen der Mg-Darreichung wirksam sind, wissen wir nicht. Derselbe Forscher versuchte ferner zahlreiche Schwefelverbindungen bei Aspergillus niger mit gutem Erfolge. Am besten wirkte Ammoniumsulfat, d. h. das SO_4-Ion. Thiosulfat, $Na_2S_2O_3$, 5 aq., wird nach RACIBORSKI (11) von demselben Pilz unter Abscheidung von Schwefelkügelchen in den Zellen assimiliert. Nach KOSSOWICZ (12) wird die Schwefelabscheidung nach Thiosulfatdarreichung nicht in allen anderen Fällen beobachtet. Über den Schwefelumsatz von Aspergillus wären ferner Ausführungen von WATERMAN (13) zu vergleichen. Nach eigenen Erfahrungen vermag sich Aspergillus aus oxy-

---

1) J. BUROMSKY, Zentr. Bakt., *36*, 54 (1912). — 2) Mlle ROBERT, Compt. rend., *153*, 1175 (1911); *154*, 1308 (1912). — 3) J. R. WEIR, Flora, *103*, 87 (1911). — 4) S. HORI, Ebenda, *101*, 447 (1910). — 5) A. E. TRAAEN, Nyt. Mag. Naturvid. Christiania 1914. — 6) G. FRON, Compt. rend., *140*, 1187 (1905). — 7) A. HÉBERT u. F. HEIM, Chem. Abstracts Amer. Chem. J. (1910), p. 1755. — 8) H. COLIN, Rev. gén. Botan., *21*, 97 (1909). — 9) M. MEDISCH, Jahrb. wiss. Botan., *48*, 591 (1910). — 10) H. COUPIN, Soc. Biol., *55*, 329, 357, 406 (1903). Compt. rend., *136*, 392 (1903). Für Sterigmatocystis versicolor COUPIN u. FRIEDEL, Ebenda, *138*, 1118 (1904). — 11) M. v. RACIBORSKI, Bull. Acad. Cracovie (1906), p. 764. — 12) A. KOSSOWICZ u. W. LOEW, Ztsch. Gär.physiol., *2*, 87 (1912). — 13) H. J. WATERMAN, Kgl. Akad. Amsterdam, 15. Juli 1913.

methansulfosaurem Ammonium mit Schwefel, aus Glycerophosphorsäure ausgezeichnet mit P zu versorgen (1).

Inorganischer P ist nach Dox (2) aus Orthophosphaten, Pyrophosphaten und Metaphosphaten den Schimmelpilzen zugänglich, hingegen waren bei NaH_2PO_2 und Na_2HPO_3 keine Nährerfolge zu verzeichnen. Auf Calciumtriphosphat wurden lösende Wirkungen durch Aspergillus und Penicillium beobachtet (3). Als „Mycelites ossifragus" wurde von Rudas (4) ein in totem Knochengewebe wuchernder Fadenpilz beschrieben. Nach den (andererseits nicht bestätigten) Angaben von Reed (5) würde ein optimaler Nährerfolg u. a. von dem relativen Verhältnis zwischen P und Mg im Substrat abhängen. Nach Waterman (6) würde es, besonders für die Begünstigung der Conidienbildung, auf Vermeidung eines Überwiegens der P-Nahrung im Vergleich zur Kohlenstoffnahrung ankommen. Die „Phosphorzahl" d. i. die Relation des assimilierten P in Milligrammen zu 100 Teilen des assimilierten Kohlenstoffes, bleibt nach diesem Autor in alten Pilzkulturen annähernd auf demselben geringen Werte (0,15). Junge Kulturen haben einen viel höheren Phosphorumsatz, so daß hier die P-Zahl bis 0,75 beträgt. Der wasserlösliche „Extrakt-P" ist nach Koch und Reed (7) die mobilste Form des in Pilzen enthaltenen PO_4, der Nuclein-P die stabilste. Die Lecithin-PO_4 spielt, auch nach den Beobachtungen von Goupil (8) an Mucor (Amylomyces) Rouxii, die geringste Rolle. Inositphosphorsäure soll bei Aspergillus selbst die anorganischen löslichen Phosphate an Eignung übertreffen (9). Nach Weigmann und Wolff (10) gibt es Oidienformen (aus Butter isoliert), welche unter Entwicklung eines scharfen rettichartigen Geruches gasförmige Phosphorverbindungen ausscheiden. Ob es sich um PH_3 oder um organische flüchtige P-Verbindungen handelt, bleibt zu entscheiden.

Schon Raulin war ein ganz geringer Zusatz eines Eisensalzes zur Pilznährlösung förderlich erschienen; doch hatten späterhin Cugini sowohl, als A. Mayer und A. Schulz Eisen für Pilze völlig entbehrlich erachtet. Später brachte Molisch wieder die ältere Anschauung zur Geltung, hauptsäch lich auf Grund der Erfahrung, daß sich in allen Pilzen Eisen nachweisen ließ, selbst wenn dieselben aus möglichst eisenfreien Kulturen stammten. Allerdings ist es bis jetzt nicht gelungen, absolut Fe-freie Pilzkulturen herzustellen. Molisch bestätigte die Erfahrung Raulins, daß Fe-Salze das Pilzwachstum hervorragend fördern. Auch nach neueren Erfahrungen von Javillier, Sauton, Linossier (11) hängt die Conidienbildung von Aspergillus niger sehr von Eisendarreichung ab; sie bleibt aus, auch in Gegenwart relativ großer Zinkmengen, wenn Fe fehlt. Hingegen bildet sich die schon von Raulin nach Eisenentziehung beobachtete, sich mit Fe rotfärbende Substanz von Aspergillus nicht aus, wenn auch das Zink weggelassen wird. Nach Linossier wäre das dunkelbraune Conidienpigment von Aspergillus ein eisenhaltiger Farbstoff. Versuche von Molisch, das Fe in seinen Wirkungen

---

1) Czapek, Hofmeist. Beitr., *2*, 582 (1902). — 2) A. W. Dox, Journ. Biol. Chem., *10*, 77 (1911). — 3) S. de Grazia u. U. Cerza, Staz. Sper. Agr. ital., *39*, 817 (1906). — 4) G. Rudas, Verhandl. Nat. Ges. (1909), II, *1*, 156. — 5) H. S. Reed, Ann. of Botan., *21*, 501 (1907). — 6) H. J. Waterman, Kgl. Akad. Amsterdam Meeting Dec. 28, 1912, p. 1058. — 7) W. Koch u. H. S. Reed, Journ. biol. Chem., *3*, 49 (1907). — 8) R. Goupil, Compt. rend., *156*, 959 (1913). — 9) A. Berthelot, Soc. Biol., 26. Juli 1907; M. A. Jegorow, Ztsch. physiol. Chem., *82*, 231 (1912). — 10) Weigmann u. Wolff, Bakt. Zentr., II, *22*, 657 (1909). — 11) M. Javillier u. B. Sauton, Compt. rend., *153*, 1177 (1911); B. Sauton, Soc. Biol., *71*, 589 (1911); Compt. rend., *151*, 241 (1910). Annal. Inst. Pasteur, *25*, 922 (1911). G. Linossier, Compt. rend., *151*, 1075 (1910).

durch Mn, Co, Ni zu ersetzen, mißlangen. Wenn auch einzelne Mangan- und Nickelversuche höhere Erntegewichte lieferten, so zeigte doch ein Ausbleiben der Conidienentwicklung den abnormen Zustand an. Es scheint nicht, als ob, wie RAULIN annahm, die Reizwirkung von Zn oder Si der Fe-Wirkung völlig analog wäre. Ob das Fe als Bestandteil von Nucleinsäuren oder anderer Eiweißkörper, oder in anderen Formen seine wichtige Funktion ausübt, bleibt zu untersuchen; vielleicht kombinieren sich verschiedene chemische und stimulierende Funktionen.

Mangan wirkt nach KANTER (1) als Wachstumsreiz, ohne das Eisen völlig ersetzen zu können. BERTRAND (2), der sich einer vervollkommneten Methodik zum Nachweise von sehr geringen Manganmengen bediente, meinte sogar, daß Mn zur normalen Conidienbildung von Aspergillus nötig sei. Schon Zufügen von 1 mg Mangan auf 10000 l Nährlösung genügte, um eine nachweisbare Wirkung bei Aspergillus hervorzurufen. Übrigens fördern sich Zink und Mangan (wohl auch Eisen) bei gleichzeitiger Darreichung in ihrer Wirkung, so daß mehr Mangan umgesetzt wird, wenn Zn dargereicht wird. Kupfersalze wirken in minimalen Konzentrationen als Wachstumsreiz, sind aber bald hemmend wirksam; in Co, Zn, Ni nimmt die die stimulierende Wirkung begleitende Giftwirkung stufenweise zu.

Es ist natürlich zu weit gegangen, wenn man mit GUSTAVSON (3) alle Wirkungen der Mineralstoffe als chemische Reizwirkungen ansieht; doch haben die grundlegenden Feststellungen PFEFFERS (4) erwiesen, wie weit verbreitet kleine Zutaten von Zink, Mangan und anderen Schwermetallsalzen, die ja in der Natur so häufig im Substrat geboten sind, als Reize wirken und in wie abwechslungsreicher Weise diese Wirkungen mit den physiologischen Einflüssen der äußeren Bedingungen in Korrelation stehen. Auf Veranlassung von PFEFFER hat RICHARDS (5) den Einfluß verschiedener Mineralstoffe auf die Trockengewichtzunahme von Aspergillus kritisch geprüft. Kräftige Reizmittel sind $ZnSO_4$ (wobei die Conidien lichtere Färbung aufweisen), $NiSO_4$, $CoSO_4$, auch NaFl und Na_2SiO_3. Aus den Versuchsresultaten von RICHARDS führe ich nachstehende Zahlen an.

Kontrollkultur ohne Zusatz:				
335 mg.	Mit	0,008 %	$ZnSO_4$:	765 mg
275 „	„	0,130 %	$FeSO_4$:	810 „
250 „	„	0,004 %	NaFl:	405 „
245 „	„	0,008 %	$CoSO_4$:	405 „
280 „	„	0,033 %	LiCl:	720 „
350 „	„	0,004 %	Na_2SiO_3:	575 „
200 „	„	0,033 %	$NiSO_4$:	785 „
205 „	„	0,004 %	$Al_2(SO_4)_3$:	265 „
245 „	„	0,008 %	$MnCl_2$:	370 „

In Zuckerlösung erreicht man mit 0,2 % $FeSO_4$ den besten Reizeffekt. Nickel kommt in seiner Wirkung am nächsten. Für $ZnSO_4$ lag das Optimum zwischen 0,002 und 0,004 %. Auch die Erfahrungen von H. SCHULZ (6), daß minimale Mengen Sublimat, Jod, Brom, $CuSO_4$, arsenige Säure, organische Giftstoffe auf Alkoholgärung erregend einwirken, berühren teilweise einschlägige Tatsachen. ONO (7) bestimmte bei einem neuerlichen Studium

1) P. M. KANTER, Dissert. Petersburg (1903); Biochem. Zentr. (1903), Ref. Nr. 1416. — 2) G. BERTRAND u. M. JAVILLIER, Compt. rend., *152*, 1337 (1911); *154*, 381, 616 (1912); Bull. Sci. Pharm., *19*, 193 (1912). — 3) G. GUSTAVSON, Just (1882), I, 38. — 4) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Botan., *28*, 238 (1895). — 5) RICHARDS, Ebenda, *30*, 665 (1897). — 6) H. SCHULZ, Pflüg. Arch., *42*, 517 (1888). — 7) N. ONO, Journ. Coll. Sci. Univ. Tokyo, *13*, I, 141 (1900).

dieser Verhältnisse die unter dem Einflusse von verschiedenen Reizstoffen verbrauchte Zuckermenge, so wie das Verhältnis zwischen verbrauchter Nahrung und dem Erntegewicht („ökonomischer Koeffizient“ KUNSTMANN und PFEFFER (1). Seine Ergebnisse bringt die nachstehende Tabelle:

% $ZnSO_4$-Zusatz	Pilzernte in g	Verbraucht. Zucker g	Ökonom. Koeffiz.
	0,262	1,594	6,1
0,0037	0,860	2,429	2,8
0,0074	0,875	2,429	2,8
0,0148	0,785	2,380	3,0
0,0297	0,773	2,340	3,0

Es wird demnach mit steigender Trockensubstanzproduktion mehr Zucker verbraucht und der ökonomische Koeffizient zeigt durch seine Größenabnahme an, daß bei gleichem Ernteergebnis der Zuckerverbrauch geringer ist: d. h. der Zucker wird besser ausgenutzt. Über die Conidienbildung von Aspergillus niger unter dem Einflusse anorganischer Salze sind die Angaben von YASHUDA (2) zu vergleichen.

Bezüglich des Maximums an Zink, welches von Aspergillus ohne Schaden ertragen wird, gibt JAVILLIER in seinen ausführlichen Untersuchungen über die Zinkwirkung an, daß noch mehr als $^1/_{1100}$ des Eigengewichtes des Pilzes dargereicht werden kann (3). Nach LEPIERRE (4) würde Cadmium das Zink in jeder Hinsicht völlig in seinen Wirkungen vertreten können, was JAVILLIER bestreitet. Ebenso gehen hinsichtlich des Berylliums die Meinungen auseinander, indem JAVILLIER dasselbe in seinen Wirkungen dem Zink fast gleichstellt, während andere Angaben (5) dahin lauten, daß weder Mg noch Zn durch Be in der Wirkung erreicht werden.

GUILLEMARD (6) sucht die Wirkung der Schwermetallsalze auf das Wachstum durch die Annahme zu verstehen, daß die Metall-Ionen in der Zelle eine Art „osmotisches Optimum“ erzeugen. Bei den starken adsorptiven Eigenschaften und der Neigung zur Bildung komplexer Verbindungen dürften aber die Schwermetall-Ionen sehr rasch in andere Form übergehen und nicht als einfache Kationen weiterbestehen. In das Gebiet der chemischen Bildungsreize durch anorganische Nahrungsbestandteile zählt übrigens auch die lebhafte Erzeugung von Oogonien bei Saprolegnia mixta nach Darreichung von 0,1—0,3% Kaliumphosphat in Zuckerlösung [KLEBS (7)]. In Leucinlösung ist NaH_2PO_4 unwirksam, hingegen wirksam in saurem Ammoniummalat. Auch auf die Antheridienbildung wirkt das Alkaliphosphat ein.

Erwähnung verdient endlich die Verarbeitung von arsenigsauren Salzen durch bestimmte Pilze. GOSIO (8) fand zuerst, daß Penicillium

1) KUNSTMANN, Dissert. Leipzig (1895). PFEFFER, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., *1*, 374 (1897). — 2) A. YASHUDA, Botan. Mag. Tokyo, *13* (1899). — 3) M. JAVILLIER, Bull. Sci. Pharm., *15*, 129 (1908); Compt. rend., *145*, 1212 (1907); *146*, 365 (1908); Bull. Sci. Pharm., *14*, Nr. 12 (1907). Rech. sur la présence et le rôle du zinc. Lons le Saunier 1908. Ann. Inst. Pasteur, *27*, 1021 (1913). — Ferner ARCICHOWSKIJ, Zentr. Bakt., II, *21*, 430 (1908). J. BUROMSKY, Ebenda, *36*, 54 (1912). — 4) LEPIERRE, Compt. rend., *156*, 258 (1913). — 5) M. JAVILLIER, Ebenda, p. 406; LEPIERRE, Ebenda, p. 409. — 6) GUILLEMARD, Ebenda, p. 1552 (1913). — 7) KLEBS, Jahrb. wiss. Botan., *33*, 119 (1899). — 8) B. GOSIO, Arch. ital. de Biol., *18*, 253 (1892); Ber. chem. Ges., *25*, Ref. p. 346 (1892); *30*, 1024 (1897); Botan. Zentr., *87*, 131 (1901). Ferner CSAPODI, Ebenda, *57*, 101 (1894); R. MAGGIORA, Zentr. Bakt., II, *11*, 237 (1903); Kochs Jahresber. Gär.org., *14*, 40 (1903); P. BIGINELLI, Chem. Zentr., 1900, II, 1067 u. 1100. H. FÜHNER, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *5*, I, 3 (1911).

glaucum, Aspergillus glaucus und Mucor mucedo auf Kartoffelbrei, dem auf 1000 g 0,05—0,10 g As_2O_3 zugesetzt war, einen flüchtigen, knoblauchartig riechenden Stoff produzieren, welcher offenbar ein As-haltiges Stoffwechselprodukt dieser Pilze darstellt; Vorbedingung war reichliche Darbietung von Kohlenhydraten. Arsensulfide wurden nicht zersetzt, Kupferarsenit schwer, Arsenite und Arsenate der Alkalien sehr leicht. In späteren Versuchen von Gosio erwies sich als besonders wirksam Penicillium brevicaule. Pool (1) beobachtete bei Monilia sitophila die Arsenitverarbeitung, nach Huss (2) kommen auch Actinomyces-Formen in Betracht. Gosio selbst wies in den flüchtigen Stoffwechselprodukten seines Penicillium Arsen nach. Die „biologische Arsenprobe" von Gosio ist praktisch brauchbar und gehört zu den feinsten Reaktionen auf Arsen (3). Nach Analogie der bei Tellur- und Selendarreichung im Tierorganismus entstehenden Stoffe: Tellurmethyl, Selenmethyl [Hofmeister, Czapek und Weil (4)], stand zu vermuten, daß es sich um ein organisches Arsin handeln dürfte. Maassen (5) zeigte, daß ganz analog Schimmelpilze und Bacterien Selenite und Tellurite unter Bildung flüchtiger Verbindungen von Knoblauchgeruch verarbeiten. Hier soll es sich aber nicht um Methylderivate, sondern um Äthylverbindungen handeln. Die von Penicillium brevicaule auf Arsenitnährboden erzeugte Substanz wurde als Äthylderivat: Diäthylarsin $AsH:(C_2H_5)_2$ angesprochen (6). Doch ist von Klason (7) später nachgewiesen worden, daß der gasförmige Stoff Gosios Äthylkakodyloxyd $[As(C_2H_5)_2]O$ ist. Das „Gosio-Gas" wird sowohl durch Quecksilberchlorid, mit dem es eine krystallisierende Verbindung liefert, als auch durch konzentrierte HNO_3 absorbiert. Nach Verdunstung der Säure auf dem Wasserbade bleibt Äthylkakodylsäure zurück, die beim Erkalten zu einer Krystallmasse erstarrt. Arsenwasserstoff ist höchstwahrscheinlich unter den Produkten des Arsenpilzes nicht enthalten. Kleine Arsendosen stimulieren übrigens auch das Wachstum von Pilzen (8).

Für jene Mineralstoffe, deren Lösungen einen gegen die osmotische Wirkung weit zurücktretenden spezifischen Giftwert haben, wie es bei den Neutralsalzen der Alkalimetalle der Fall ist, liegt die Schädigungsgrenze oft sehr hoch. Nach Eschenhagen (9) wächst Penicillium noch auf 22% KNO_3 (entsprechend 55% d-Glukose) und Klebs (10) sah Sporen von Eurotium repens noch in 37% $NaNO_3$ auskeimen; eine mit etwas Traubensaft vermischte gesättigte Salpeterlösung gestattete noch Bildung der Conidienträger dieses Pilzes.

Die Gewinnung unlöslicher Mineralstoffe durch Pilze muß in der Natur unter verschiedenen Bedingungen eine bedeutungsvolle Rolle spielen.

---

1) J. F. A. Pool, Pharm. Weekbl., *49*, 878 (1912). — 2) H. Huss, Ztsch. Hyg., *76*, 361 (1914). — 3) F. Abba, Zentr. Bakt., II, *4*, 806 (1898); R. Abel u. P. Buttenberg, Ztsch. Hyg., *32*, 449 (1899); B. Galli-Valerio u. Strzyzowski, Chem. Zentr. (1901), I, 63; Marpmann, Ebenda (1900), II, 1187; die Einwände von O. Emmerling, Ber. chem. Ges., *29*, 2728 (1896); *30*, 1026 (1897), kommen nicht in Betracht. Hildebrand, Zentr. Bakt., II, *21*, 180 (1908). Vgl. W. Hausmann für die in Aktinien symbiontisch lebenden Algen: Hofmeist. Beitr., *5*, 397 (1904). — 4) F. Hofmeister, Arch. exp. Pathol., *33*, 198 (1894); F. Czapek u. Weil, Ebenda, *32*, 451 (1893). — 5) A. Maassen, Arbeit. Kais. Gesundh.amt., *18*, 475 (1902). B. Gosio Acc. Linc. Roma (5), *13*, I, 422 (1904). — 6) Maassen, l. c.; P. Biginelli, Acc. Linc. Rom. (5), *9*, II, 242 (1900). W. Hausmann, Ztsch. Hyg., *53*, 509 (1906). — 7) P. Klason, Arkiv för Kemi, *5*, Heft 8 (1913); Ber. chem. Ges., *47*, 2634 (1914). — 8) S. F. Orlowski, Biochem. Zentr. (1903), Ref. Nr. 702. — 9) Eschenhagen, Üb. d. Einfluß von Lösungen verschied. Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Dissert. Leipzig. Stolp 1889. — 10) G. Klebs, Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen u. Pilzen (1896), p. 464.

Die Kalkschalen und Kalkgerüste der verwesenden tierischen Reste, auf denen Pilze üppig gedeihen, Knochen höherer Tiere, aber auch die mineralischen Partikel im pilzbewohnten Humusboden bieten ein fast allenthalben gebotenes Substrat für solche Vorgänge. LIND (1) hat gezeigt, daß Hyphen von Aspergillus, Penicillium, besonders auch Botrytis cinerea, Eierschalen dünne Platten aus Kalk, Marmor, Knochen, durchwachsen, und glattpolierte Marmorplatten, noch stärker als es Wurzeln tun, korrodieren. Bei Knochen sieht man das Eindringen der Hyphen durch die HAVERSschen Kanäle in das Innere. Hatten die Pilze die ihnen nötigen Nährsalze in der Kulturlösung nicht zur Verfügung, so war die Kalkkorrosion bedeutend stärker. Andererseits förderte ein Zusatz von 0,5% NaCl die Korrosion von Kalkplättchen. Diese Erfahrung könnte immerhin dahin gedeutet werden, daß organische Säuren, vor allem Oxalsäure, die so gewöhnlich von Pilzhyphen erzeugt wird, eine Rolle bei der Mineralkorrosion spielen. Hierüber wären auch Angaben von S. KUNZE (2) zu vergleichen, denen zu entnehmen ist, daß Pilzkulturen auf zerkleinertem Kalkstein keine erhebliche aufschließende Rolle entfalteten — auch auf Feldspat und Glimmer waren die untersuchten Pilze unwirksam. Nach KUNZE würde aber doch die Produktion organischer Säuren durch Bodenpilze bei der Bodenaufschließung als sehr wirksamer Faktor in Betracht kommen. Nach RUDAS (3) ist ein als „Mycelites ossifragus" benannter Fadenpilz in totem Knochengewebe wuchernd gefunden worden.

Neunundvierzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel der Algen.**

§ 1.

Aschenanalysen.

Obwohl schon in älteren Zeiten einzelne Algenformen von verschiedenen Forschern der chemischen Analyse unterworfen wurden: BOUVIER (4) untersuchte 1791 Corallina; BRACONNOT (5) 1813 Nostoc; GAULTIER DE CLAUBRY 1815 verschiedene Meeresalgen; MITSCHERLICH 1843 Conferven; und seither eine größere Reihe von Analysen über Süß- und Seewasseralgen vorliegen, so fehlt trotzdem noch immer eine größere von exakt physiologischen Gesichtspunkten geleitete Untersuchung über die Mineralstoffe der Algen. Wir müssen daher sogar darauf verzichten, die Zusammensetzung der Asche eines so viel gebrauchten Laboratoriumsobjektes wie Spirogyra aus der Literatur zu erfahren. Die Fortschritte in der Reinzucht von Algen würden es gestatten, verschiedene Formen hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung näher kennen zu lernen, so daß die Ausfüllung dieser Lücken gegenwärtig ausführbar wäre.

---

1) K. LIND, Jahrb. wiss. Botan., *32*, 603 (1898). — 2) G. KUNZE, Ebenda, *42*, 383 (1906). Auch nach BACHMANN, Ber. dtsch. bot. Ges., *34*, 581 (1916) ist die kalklösende Wirkung bei dem flechtenparasitischen, gelegentlich aber auch als Felsanwohner freilebenden Pilz Pharcidia lichenum (Arn.) sehr gering. — 3) G. RUDAS, Verhandl. Ges. Nat. (1909), II, *1*, 156. — 4) BOUVIER, Ann. de Chim., *9*, 83 (1791). — 5) BRACONNOT, Ebenda, *87*, 237 (1813). — 6) MITSCHERLICH, Journ. prakt. Chem., *43*, 158 (1848).

Soweit die vorliegenden Arbeiten erkennen lassen (es wurde nicht immer auf peinliche Reinigung und tadellose Konservierung des Materiales geachtet, da in der Analyse meist praktische Interessen verfolgt wurden), sind die meisten Algen aschenstoffreiche Pflanzen. Die Menge an Mineralstoffen steigert sich in jenen Fällen, in denen starke Kalkinkrustation, Eiseneinlagerung, Verkieselung vorkommt, zu hohen Zahlen. Eine Auswahl von Analysen möge die nötigen Details für unsere Darlegung erbringen.

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	SO_3	SiO_2	Cl	J	Br
Ulva latissima	31,81	4,20	17,23	4,61	1,31	17,54	1,61	10,55	23,68	18,90	.	.
Enteromorpha compressa .	47,80	10,34	22,17	19,22	3,24	0,90	3.65	22,99	5,11	16,27	.	.
„ intestinalis	27,05	7,14	20,85	16,59	3,34	0,78	2,18	27,87	10,25	14,19	.	.
Monostroma Grevillei . .	17,61	4,91	.	31,20	6,32	2,22	1,50	34,77	2,13	.	.	.
Cladophora glomerata . .	17,08	0,35	6,38	59,18	1,84	0,53	4,14	13,33	10,60	1,05	.	.
Vaucheria dichotoma f. marina	38,39	4,88	14,64	5,69	1,83	14,34	4,82	8,49	25,39	16,36	.	.
Valonia utricularis . . .	52,97	3,21	14,99	7,86	3,98	15,45	4,51	0,23	26,61	12,22	.	.
Chara foetida	31,33	0,85	0,44	95,35	0,99	0,07	0,54	0,42	1,22	0,16	.	.
Cladostephus verticillat. .	28,25	4,46	.	22,80	.	10,00	1,37	21.13	10,00	.	.	.
Laminaria digitata . . .	18,64	22,40	24,09	11,86	7,44	0,62	2,56	13,26	1,56	17,23	3,08	.
„ saccharina . .	7,56	12,91	21,86	22,08	14,49	1,06	2,12	23,89	.	0,53	0,95	.
Fucus vesiculosus . . .	13,89	15,23	24,54	9,78	7,16	0,33	1,36	28,16	1,35	15,24	0,31	.
„ serratus	13,89	4,51	31,37	16,36	11,66	0,34	4,40	21,06	0,43	14,39	1,13	.
Ascophyllum nodosum .	14,51	10,07	26,59	12,80	10,93	0,29	1,52	26,69	1,20	12,24	0,46	.
Cystoseira sp.	16,05	4,30	.	33,89	4.80	1,54	1,84	14,53	16,55	.	.	.
Halydris siliquosa . . .	11,19	15,41	15,49	10,12	7,55	2,39	2,95	17,89	1,50	37,24	0,67	0,65
Sargassum vulgare . . .	24,58	20,40	23,72	17.90	4,02	.	1,84	14,65	.	17,47	.	.
„ bacciferum . .	11,62	0,78	6,96	47,05	5,85	.	3,33	19.10	1,63	14,30	.	.
Padina pavonia	58,90	0,87	.	34,10	2,02	4,53	0,85	4,88	5,15	.	.	.
Ecklonia buccinalis . .	11,83	22,66	20,20	26,16	6,17	.	3,69	15,98	4,05	1,09	.	.
Durvillea utilis	.	12,57	28.73	14,89	0,87		2,61	20,65	.	19,68	.	.
Chondrus crispus . . .	20,61	17,32	18,73	7,16	11,35	.	2,21	41.24	.	3,79	.	.
Iridaea edulis	9,86	23,42	16,93	20,46	?	.	13,01	30,54	3,15	8,84	.	.
Gracilaria confervoid. . .	24,06	3,94	26,37	6,25	2,0	14,96	4,61	7,61	14,60	23,53	.	.
„ armata . . .	12,12	6,80	.	22,67	2,98	6,05	3,53	21,50	12,92	.	.	.
Delesseria sanguinea . .	11,61	14,90	23,17	4,35	6,46	.	2,36	44,18	.	4,58	.	.
Laurencia obtusa . . .	42,60	1,63	.	40,90	2,67	2,68	1,37	8,88	4,26	.	.	.
Polysiphonia elongata .	15,17	22,61	13,33	. 4,47	15,30	.	1,76	30,54	3,15	8,84	.	.
Ceramium rubrum . . .	14,34	7,08	23,94	17,44	1,91	1,02	2,95	30,89	1,05	17,65	.	.
Furcellaria fastigiata . .	18,92	20,24	23,47	7,25	10,46	.	3,69	30,92	0,21	5,24	.	.
Liagora viscida	64,70	0,94	.	54,92	0,48	0,53	0,66	7,13	0,23	.	.	.

Nach König und Bettels (1) enthält lufttrockenes Material von

	Wasser	Asche	NaCl	Durch Dämpfen gelöste anorganische Stoffe
Porphyra tenera	4,57	7,57	0,50	6,79
Gelidium cartilagineum .	13,00	11,88	0,30	9,37
Laminaria japonica . .	4,20	29,29	16,71	27,30
Cystophyllum fusiforme .	15,15	20,53	3,74	18,36
Enteromorpha compressa	14,17	12,12	2,55	7,73
Ecklonia bicyclis	11,56	18,72	10,41	17,47
Undaria pinnatifida . .	9,22	35,13	21,82	32,32

Seetang-Analysen von Beckmann und Bark (2): I. Fucus vesiculosus und serratus von der westfranzösischen Küste. II. Fucus serratus

1) J. König u. J. Bettels, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mittel, 10, 457 (1905). — 2) Beckmann u. Bark, Sitz.ber. preuß. Ak. Berlin 1916, p. 1009.

und balticus von Rügen. III. Ascophyllum nodosum von Norwegen. IV. Laminaria Cloustoni von Norwegen. V. Laminaria saccharina von Norwegen.

	I	II	III	IV	V
Wassergehalt d. lufttrock. Mat.	12,39	12,31	11,1	12,4	13,58 %
Asche	13,10	16,03	17,84	13,67	16,64 %

Tange aus dem pacifischen Ozean nach TURRENTINE (1):

	K_2O	J	KCl	Asche	Lösl. Salze	P_2O_5	SO_3
Nereocystis Luetkeana . .	25,7	0,08	40,6	2,3	55,9	0,7	1,68
Laminaria bullata	15,9	0,41	25,2	5,8	36,8		
Laminaria saccharina, Laub	13,3	0,15	21,0	3,5	35,0		
Alaria valida	16,9	0,41	26,7	17,4	35,6		
Desmarestia ligulata . . .	13,5	0,12	21,3	9,8	41,9		
Pleurophycus Gardneri . .	17,8	0,53	28,1	11,3	38,4		
Fuçus evanescens	6,9	0,12	10,9	8,2	26,5		
Egregia Menziesii	3,1	0,06	4,90	4,1		1,79	
Postelsia palmaeformis . .	13,9	0,15	22,0	5,7		1,04	
Macrocystis pyrifera . . .	19,6	0,2	31,0	16,0		0,81	2,24
Pelagophycus porra	12,1	0,27	19,1	4,9		0,51	2,33

In Carraghen fand NYGÅRD (2) 12,5 % Wasser und 21,37 % der Trockensubstanz an Asche; JOLLES (3) gab nur 1,59 % Asche für käufliches Carraghen von Chondrus crispus an. Zahlreiche Analysen von Algen sind bei WOLFF mitgeteilt; ferner von J. A. MÜLLER (4), über Fucus-Analysen von GRIFFITHS (5). Nostoc phylloderma aus Japan enthält nach NAMIKAWA (6) in der Trockensubstanz 12,28 Aschenstoffe.

Untersuchungen verschiedener Entwicklungsstadien von Algen fehlen fast ganz. Bei WOLFF finden sich Analysen von Blatt und Stamm der Laminaria digitata im Frühling und Herbst mitgeteilt, welche nachstehende Veränderungen des Mineralstoffgehaltes mit dem Lebensalter und der Jahreszeit ergeben haben:

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphors.	Schwefelsäure	SiO_2	Cl	J
Stengel, Frühling	35,10	34,11	12,09	5,45	12,91	0,53	2,06	8,56	1,42	28,35	1,1
„ Herbst	45,22	44,74	8,45	7,52	2,85	0,21	2,52	2,33	0,34	38,67	1,2
Blatt, „		30,06	16,73	7,48	6,06	0,51	2,73	9,03	1,01	32,14	1,64

Viel läßt sich mit diesen Ergebnissen nicht machen.

Nähere Erörterungen verdienen die als Inkrustationen und Gerüstsubstanzen der Algen vorkommenden Mineralstoffe. Verkalkung der Zellwände ist eine bei Algen außerordentlich verbreitete Erscheinung, die nicht allein den höheren Formen eigen ist. So kommt „Imprägnierung" der Zellmembranen mit kohlensaurem Kalk schon bei Peridineen vor (7). Daß bei Cyanophyceen in warmen Quellen Kalkablagerungen gebildet werden, wodurch oft mächtige Kalksinterkomplexe entstehen, hat wohl F. COHN (8)

---

1) J. W. TURRENTINE, Journ. Ind. Eng. Chem., *4*, 431 (1912). Vgl. auch E. G. PARKER u. J. R. LINDEMUTH, Ebenda, *5*, 287 (1913). — 2) A. NYGÅRD, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125. — 3) JOLLES, Just (1896), II, 452. — 4) J. A. MÜLLER, Ann. Agron., *20*, 82 (1894). — 5) A. B. GRIFFITHS, Chem. News, *48*, 197 (1883). FRISBY, Amer. Journ. Pharm., *52*, 434 (1880). — 6) S. NAMIKAWA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 123 (1906). — 7) A. J. SCHILLING, Flora (1891), Heft 3. — 8) F. COHN, Schles. Ges. Breslau, *70*, 77 (1893).

zuerst hervorgehoben. In Nordamerika (Yellowstone-Distrikt und andere Orte) wurden Nostocaceen, ferner Schizothrix calcicola, Gloeocapsa violacea und Synechococcus aeruginosus als Ursachen von Kalk- und Kieselsinterbildungen erkannt (**1**). Für die Bildung schwedischer Kalktuffe zählt SERNANDER (**2**) Rivularia haematites, Petalonema crustaceum und Diplocoleon Heppii auf. Die Fällung des Kalkes erfolgt an der Außenfläche der Schleimhüllen. Im Bodensee zeigte sich deutlich eine Zonenbildung der Kalkschichten durch die Hemmung des Vorganges im Winter (**3**). Eine von COHN (**4**) beobachtete Rivulariacee (vielleicht Euactis calcivora A. Br.) löst im basalen Teile, mit welchem sie sich festsetzt, Kalkgestein auf, während im oberen Teile innerhalb der Gallertscheide krystallinische Kalkausscheidungen entstehen. Bei den in warmen Quellen lebenden Formen dürfte es sich um Bildung von Aragonit handeln. MEIGEN (**5**) hat in der Färbung feinzerriebenen Aragonites beim Kochen mit verdünntem Cobaltonitrat ein Mittel gefunden, um denselben von Calcit, der ungefärbt bleibt, leicht zu unterscheiden. Nach diesem Autor soll Aragonit bei Halimeda, Acetabularia, Galaxaura und Cymopolia gebildet werden, während Lithophyllum, Lithothamnion und Corallina Calcit produzieren. Bei der Untersuchung von Kalkablagerungen bei Algen wird auch die Eigenschaft von Kalksalzen, Purpurinlösungen zu fällen, verwendbar sein, wie sie GRANDIS und MAINI (**6**) für die Knochenuntersuchung benutzt haben. Sehr viele Forscher haben sich mit der Kalkinkrustation von Chara befaßt, die schon PAYEN (**7**) 1841 näher untersuchte. Nach HANSTEIN (**8**) findet die Kalkablagerung ausnahmslos in den Interzellularräumen zwischen Rindenzellen und Achsenzelle nach und nach statt. Bei Acetabularia mediterranea haben NÄGELI, DE BARY und STRASBURGER, dann besonders LEITGEB (**9**) die mächtige Kalkeinlagerung in die Zellmembran untersucht. Bekannt ist schließlich die Verkalkung der Zellhaut vieler Siphoneen: Halimeda, Neomeris und vieler anderer, dann besonders der Florideen aus der Familie der Corallinaceen, welche in vielen geologischen Epochen gesteinsbildend auftraten, und auf die zahlreiche Kalke, deren Struktur nicht mehr den Ursprung aus Kalkalgen verrät, genetisch zurückzuführen sind.

Die Lithothamnion-Arten besitzen übrigens einen so hohen Gehalt an Magnesium in ihren Ablagerungen, daß man sie direkt als Dolomit bildende Algen betrachten kann (**10**). Doch zeigen die obenstehenden analytischen Daten, daß man in einer Reihe von Fällen bei Algen einen auffällig hohen MgO-Gehalt beobachtet hat. HÖGBROM fand in einer Lithothamnion-Art von den Bermudas-Inseln 15 % $MgCO_3$.

In Meeresalgen konnte KYLIN (**11**) allgemein Kalk mikrochemisch durch

---

1) PENHALLOW, Bot. Gaz., *21*, 215 (1896). HARSHBERGER, Amer. Journ. Pharm., *69*, 625 (1897). TILDEN, Botan. Gaz., *24*, 194 (1897). — **2**) SERNANDER, Geol. Förenig. Stockholm, *38*, 521 (1915); *37*, 127. — **3**) BAUMANN, Verh. Schweiz. naturf. Ges., 96. Jahresvers. 1913. FRAUENFELD, II, 207 (1914). — **4**) F. COHN, Schles. Ges. (1894), p. 19. — **5**) W. MEIGEN, Zentr. Mineralog. (1901), p. 577; Verh. Nat. Ges. (1910), II, *1*, 120; WYROUBOFF, Chem. Zentr. (1902), II, 629; HINDEN, THUGUTT, Ztsch. wiss. Mikr., *22*, 303 (1905). Abscheidung von $CaCO_3$ aus Bicarbonat, Krystallform: F. VETTER, Ztsch. Kryst., *48*, 45 (1910). — **6**) GRANDIS u. MAINI, Zentr. Physiol. (1900), p. 107. Vgl. auch SALOMON, Jahrb. wiss. Botan., *54*. Metallfärbung verkalkter Gewebe: W. STOELTZNER, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 250. — **7**) PAYEN, Compt. rend., *13*, 799 (1841). — **8**) J. HANSTEIN, Niederrhein. Ges., Bonn (1872). Botan. Ztg. (1873), p. 694. — **9**) NÄGELI, Neuere Algensysteme, p. 158. DE BARY, Botan. Ztg. (1877), p. 713; LEITGEB, Sitz.ber. Wien. Ak., *96*, 13 (1888). — **10**) HÖGBROM, Hedwigia (1894), p. (36). Kalkalgen der Silurzeit: ROTHPLETZ, Swed. geol. Undersöken. Afh., Stockholm 1913. — **11**) H. KYLIN, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 337 (1915).

Ammoniumoxalat nachweisen. Die Intercellularsubstanz besteht wesentlich aus Calciumpectat.

Sehr bemerkenswert ist die Einlagerung von Eisenhydroxyd in Zellmembranen, besonders in die Gallertscheiden vieler Algen. Auf das Vorkommen derselben weisen schon die hohen Fe_2O_3-Werte in einzelnen der angeführten Analysen hin. Eiseneinlagerungen scheinen in allen Hauptgruppen der Algen vorzukommen. Die Zusammenstellungen bei MOLISCH (1) zeigen, daß verschiedene Bacillariaceen, Oscillarien, Closterien, aber nach KLEBS (2) auch Euglenaceen, ferner Valonien, Conferven, Cladophoren und Oedogonien hier zu nennen sind. Für Conferva sind Angaben von HANSTEIN (3) zu vergleichen; nach GAIDUKOW (4) ist der Vorgang der Eisenablagerung bei Conferva analog der Verkalkung oder Verkieselung der Membran. Während bei Closterium, auch Cladophora die Zellhaut im ganzen Umfange Sitz der Eiseneinlagerung ist, wird bei Trachelomonas, bei den Gallertstielen von Gomphonema, Conferva, Fe in der Gallerthülle abgelagert. Doch fand MOLISCH sogar im Zellinhalte mehrerer Algen Körnchen von Fe_3O_4. Manche Algen bilden die Eiseneinlagerung nur in eisenreichem Wasser, während andere auch in gewöhnlichen eisenarmen terrestrischen Gewässern die Einlagerungen zeigen. Oedogonium- und Cladophora-Arten lagern nicht nur leicht $CaCO_3$ ab, sondern auch $Fe(OH)_3$, während Zygnema und Spirogyra niemals Ca- und niemals Fe-Einlagerungen aufweisen. Deshalb liegt es nahe, an gemeinsame Ursachen zu denken und die Kohlensäureverarbeitung im Lichte durch die Algen mit der Zersetzung der im Wasser gelösten sauren Carbonate von Ca und Fe und einer Abscheidung von Carbonat bzw. Metallhydroxyd durch sekundären Umsatz in Verbindung zu bringen. Für Mangansalze ist MOLISCH (5) der Nachweis der Zersetzung im Lichte durch Wasserpflanzen gelungen, allerdings nur für Phanerogamen. Da aber viele Kalkalgen andererseits nie Eiseneinlagerung bilden, so ist der Vorgang durch obige Überlegungen keinesfalls völlig aufgeklärt.

Reichliche Manganablagerung fand PEKLO (6) bei einer marinen Cocconeis-Art, einer auf Cladophoren epiphytisch lebenden Diatomee. MARCELET (7) fand in marinen Algen ziemlich viel Mangan: auf 100 g Trockensubstanz 1,5—36,3 mg Mn. In den Arbeiten des letztgenannten Autors findet man auch Angaben hinsichtlich des Arsengehaltes von Meeresalgen. Nach TASSILLY und LEROIDE (8) enthalten 100 g Chondrus crispus 0,07, Fucus vesiculosus 0,01, Laminaria digitata 0,05, Lam. saccharina und flexicaulis 0,01 mg Arsen.

Die Gegenwart von Spuren von Silber, Kupfer, Blei in verschiedenen marinen Algen (Ulva, Fucus) konstatierten schon MALAGUTI, DUROCHER und SARZEAUD (9). Diese Metalle sind in geringen Mengen im Seewasser enthalten und werden daraus von den Algen aufgenommen. Die spektrographische Aschenuntersuchung von Meerespflanzen zeigte CORNEC (10), daß sich darin Ag, As, Co, Cu, Mn, Ni, Pb und Zn nachweisen lassen. Nur im Meerwasser fanden sich Bi, Sn, Gallium, Mo, Au; weder im Meerwasser noch in marinen Pflanzen nachzuweisen waren Sb, Ge, Be, Ti, Wo und Va.

---

1) H. MOLISCH, Die Pflanze in ihrer Beziehung zum Eisen (1892), p. 12. — 2) G. KLEBS, Unters. botan. Inst. Tübingen, *2*, 383 (1887). — 3) J. HANSTEIN, Niederrhein. Ges. Bonn (1878), p. 73. — 4) N. GAIDUKOV, Ber. bot. Ges., *23*, 250 (1905). — 5) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *118*, 1427 (1909). — 6) J. PEKLO, Österr. Botan. Ztsch., *59*, 289 (1909). — 7) H. MARCELET, Bull. Sci. Pha., *20*, 480 (1913); ebenda 271; Bull. Inst. océanograph., Nr. 265 (1913). — 8) E. TASSILLY u. J. LEROIDE, Bull. Sci. Pha., *17*, 580; Bull. Soc. Chim. (4), *9*, 63 (1910). — 9) MALAGUTI, DUROCHER u. SARZEAUD, Compt. rend., *29*, 780 (1849). Ann. Chim. et Phys. (3), *28*, 129 (1850). — 10) EU. CORNEC, Compt. rend., *168*, 513 (1919).

Phosphate sind nach KYLIN (**1**) im allgemeinen bei Meeresalgen mikrochemisch nicht aufzufinden. Nur bei gröberen Algen, wie Ascophyllum, Fucus und Laminaria kann man von einer Anhäufung von PO_4 in den jüngsten Teilen des Thallus sprechen.

Ungemein augenfällig ist der hohe Sulfatgehalt, welchen die Asche vieler Meeresalgen aufweist. Für Süßwasseralgen liegen noch viel zu spärliche Erfahrungen vor, als daß ein Vergleich mit den marinen möglich wäre. Worauf die reichliche Gegenwart von SO_4 beruht, ist nicht bekannt. CHURCH (**2**) fand, daß käuflicher Chondrus crispus (Carraghen) mehr Schwefel enthält, als dessen Asche. Nach HOAGLAND und LIEB (**3**) enthält Ulva fasciata 4,4% Gesamt-S, 2,8% S als lösliches Sulfat, 0,4 lösliches organisches S, 1,2% unlöslichen S und 0,1% mit Dampf flüchtigen S. Nicht unmöglich ist es, daß oft reichlich Gips vorhanden ist. Bisher kennt man aber nur bei verschiedenen Desmidiaceen durch FISCHERs Untersuchungen (**4**) das Vorkommen von Gipskryställchen in Algenzellen, welche hier in Vacuolen eingeschlossen auftreten. Der intensive Schwefelwasserstoffgeruch faulender Meeresalgen deutet aber auf das Vorhandensein größerer Mengen von Sulfhydrilgruppen. Ein sicherer Fall von Einlagerung von Schwefelkörnchen in Algenzellen ist bei einer Oscillaria-Art aus dem Golfe von Neapel durch HINZE (**5**) beobachtet. Die von P. RICHTER (**6**) in verschiedenen als „Wasserblüte" auftretenden Cyanophyceen als „Schwefelkörnchen" gedeuteten Gebilde, sind, wie KLEBAHN (**7**) und MOLISCH (**8**) fanden, kein Schwefel. KLEBAHN hatte versucht, die rötlich gefärbten Inhaltskörperchen in den Zellen der erwähnten Plankton-Algen als Gas-Vacuolen zu deuten; doch ist dies nach den Untersuchungen von MOLISCH mindestens unsicher. Daß wir es in ihnen mit Schwebeeinrichtungen zu tun haben, hat MOLISCH nicht in Zweifel gezogen, wohl aber später FISCHER (**9**). Gegenwärtig ist die Natur der „Schwebekörperchen" gänzlich unklar. Auch die als Schwebekörnchen beschriebenen Gebilde bei Oscillarien sind in ihrer physiologischen Bedeutung noch aufzuhellen.

Kieselsäure spielt bei den Algen eine wichtige Rolle als Bestandteil der Zellhaut. Schon 1834 hatte EHRENBERG (**10**) bei den Bacillariaceen den SiO_2-Gehalt der Schalen sichergestellt. LADENBURGS (**11**) Bemühungen, bei Pflanzen organische Siliciumverbindungen aufzufinden, sind erfolglos geblieben. Bezüglich der Diatomeen gehen vielmehr die Ansichten von PFITZER und SCHÜTT (**12**) dahin, daß Kieselsäure selbst oder ein Hydrat derselben in den Schalen abgelagert sei. Allerdings ist es nicht bekannt, ob intermediär in der Zelle organische SiO_2-Verbindungen auftreten. Die oben erwähnten Kalksinter bildenden Cyanophyceen scheiden auch Kieselsinter aus, wodurch an heißen Quellen mächtige Ablagerungen entstehen können. Bei höheren Algen tritt die SiO_2 in ihrer Beteiligung am Stoffwechsel wesentlich zurück.

---

1) KYLIN, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 337 (1915). — **2**) A. H. CHURCH, Journ. of Bot., *5*, 71 (1876). — **3**) HOAGLAND u. LIEB, Journ. Biol. Chem., *23*, 287 (1915). — **4**) A. FISCHER, Jahrb. wiss. Botan., *14*, 133 (1884). — **5**) G. HINZE, Ber. bot. Ges., *21*, 394 (1903). — **6**) P. RICHTER, Forsch. Bericht. Biol. Stat. Plön (1894), p. 42. — **7**) KLEBAHN, Flora (1895), p. 241; Forsch. Bericht. Plön (1896) u. (1897). — **8**) H. MOLISCH, Botan. Ztg. (1903), I, 47. — **9**) A. FISCHER, Ebenda (1905), I, 112. — **10**) C. G. EHRENBERG, Pogg. Ann., *32*, 574 (1834); *38*, 213 (1836); *40*, 636 (1837). — **11**) A. LADENBURG, Ber. chem. Ges., *5*, 568 (1872). Auch A. PERATONER, Rend. Congr. Bot. Palermo (1902), p. 134; Botan. Zentr., *99*, 85. — **12**) SCHÜTT, Biochem. Zentr., *6*, 257 (1886).

Neben dem hohen Chlorgehalt der Meeresalgen, welcher bis 38% der Asche betragen kann (es handelt sich um Alkalichloride) (**1**), ist das Vorkommen von mitunter nicht geringen Quantitäten Jod und Brom in diesen Organismen von Bedeutung. Im Jahre 1813 berichteten DESORMES und CLÉMENT (**2**) über die Entdeckung des Jod als neuen Grundstoff im Seetang durch COURTOIS. Vielfach wurde behauptet, daß Jod nur in Meereskryptogamen, nicht aber im Seewasser selbst (**3**) vorkomme, und erst 1825 gelang es VAUQUELIN und LIEBIG (**4**), das Jod auch in der unbelebten Natur, in Mineralquellen, nachzuweisen. Meerwasser enthält im Liter rund 0,05 mg Gesamt-Jod, als Jodid und Jodat-Ion (**5**). Das Brom wurde zuerst 1826 durch BALARD (**6**) sowohl in Fucus-Asche als im Seewasser aufgefunden. Im großen gewinnt man Jod hauptsächlich aus Laminarien. Nach GAUTIERS Untersuchungen (**7**) ist in Fucus und Laminaria im Mittel auf 100 g frische Pflanzen 12 mg Jod, auf 100 g trockene Pflanzen 60 mg J enthalten; unter Umständen ist der Jodgehalt aber auch bedeutend größer (**8**).

SCURTI (**9**) fand bei seinen im Mai und August ausgeführten Jodbestimmungen bei

		Asche	Jod
Sargassum linifolium	Mai	5 %	0,1275 %
	August	40 %	0,017 %
Cystoseira discors	Mai	12 %	0,04554 %
	August	34 %	0,0085 %

Braunalgen enthalten mehr Jod als Grünalgen.

HENDRICK (**10**) gibt für Laminarien folgende Zahlen:

		Wasser	W. lösl. Asche	unlösl. Asche	Ges. Halogen als Cl	Jod
Lam. digitata,	Stengel	82,90	4,80	1,21	1,75	0,094 %
	Blätter	75,00	4,06	1,06	1,36	0,084 %
Lam. stenophylla,	Stengel	83,22	4,71	0,96	1,82	0,061 %
	Blätter	78,54	3,74	0,93	1,36	0,064 %
Fucus vesiculosus		68,12	5,02	1,13	1,04	0,010 %
Ascophyll. nodosum . . .		69,60	4,89	1,24	1,01	0,026 %
Fucus serratus		73,63	4,13	1,19	1,19	0,013 %

Junge Algen sind jodreicher als ausgewachsene.

Nach SUNDVIK (**11**) ist der Jodgehalt von Ostsee-Algen trotz des salzarmen Wassers ebenso groß wie bei ozeanischen Algen. CAMERON (**12**)

---

1) Nach BALCH, Journ. Ind. Eng. Chem., *1*, 777 (1909) ist die Asche von Nereocystis und Macrocystis besonders reich an KCl. — **2**) DESORMES u. CLÉMENT, Schweigg. Journ., *9*, 339 (1813). Ferner ACCUM, VAN MONS, Gilb. Ann., *46*, 426; *48*, 5, 428 (1814); H. GAULTIER DE CLAUBRY, Ann. de Chim., *93*, 75 (1815); KRÜGER, Schweigg. Journ., *32*, 292 (1821); FAGERSTRÖM, Berzelius Jahresber., *4*, 210 (1825). J. MOLESCHOTT, Physiol. d. Stoffwechs. Erlangen (1851), p. 159. — **3**) z. B. FYFE, Ann. Chim. et Phys. (2), *12*, 405 (1819); BUSSY, Compt. rend., *30*, 537 (1850). — **4**) VAUQUELIN, Ann. Chim. et Phys. (2), *29*, 99 (1825); LIEBIG, Ebenda, *31*, 335 (1826). — **5**) Vgl. WINKLER, Ztsch. angew. Chem., *29*, 205 (1916). — **6**) BALARD, Ann. Chim. et Phys., *32*, 337 (1826). — **7**) A. GAUTIER, Compt. rend., *129*, 189 (1899). — **8**) CUNIASSE, Chem. Zentr. (1900), II, 286. — **9**) F. SCURTI, Gazz. chim. ital., *36*, II, 619 (1906); SCURTI u. S. CALDIERI, Staz. Sper. Agr. Ital., *40*, 225 (1907). — **10**) J. HENDRICK, Journ. Soc. Chem. Ind., *35*, 565 (1916). Vgl. ferner CAMERON, Journ. Biol. Chem., *23*, 1 (1915). — **11**) E. SUNDVIK, Med.af Soc. pro fauna et flor. fenn. Bot. Zentr., *99*, 163. — **12**) A. T. CAMERON, Journ. Biol. Chem., *18*, 335 (1914); Jodspeicherung und Verteilung im tierischen Organismus: F. BLUM u. R. GRÜTZNER, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 360 (1914).

fand in allen Meeresalgen, ebenso in Seetieren, mindestens 0,001 % Jod. Bei den Vertebraten enthielt nur die Schilddrüse eine nennenswerte Menge Jod.

Nach GAUTIER finden sich Spuren von Jod: 0,25 mg auf 100 g Trockensubstanz auch in verschiedenen Algen des Süßwassers. Der Bromgehalt beträgt wohl selten mehr als 0,2 % der Asche. Im normalen menschlichen Organismus fehlt Brom überhaupt (**1**).

Zum Nachweise von Jod in Laminaria röstete FLÜCKIGER (**2**) gepulvertes, mit Bimsstein gemengtes Algenmaterial vorsichtig bis zur Verkohlung, extrahierte die Masse mit Wasser, säuerte mit FCl_3 an und schüttelte das Jod mit Schwefelkohlenstoff aus, in welchem es eine violette Lösung gibt (**3**). Nach TUNMANN (**4**) läßt sich diese Methode dahin modifizieren, daß man das Jod mit HNO_3 freimacht und es sodann mit Stärkekleister nachweist. Auch Natriumhypochlorit eignet sich zum Freimachen des J (**5**). WEIS (**6**) schlug vor, das eingetrocknete Algenextrakt mit KOH und KNO_3 zu schmelzen und so das Jod in KJ überzuführen. Man kann dann nach RIEGLER (**7**) das Jod mit H_2O_2 freimachen. Mikrochemisch ist Jod als Jodid bei Fucaceen nach KYLIN (l. c. 1915) leicht nachzuweisen. Für die quantitative Bestimmung von Jod in organischen Substanzen muß auf die einschlägige Literatur verwiesen werden (**8**).

Als scharfe Reaktion auf Brom läßt sich nach DENIGÈS (**9**) und GUARESCHI (**10**) die Purpurfärbung von Rosanilin-Bisulfitlösung durch Bromdampf oder wässerige Bromlösung gebrauchen; das Rosanilinreagens kann auch in Form von Reagenspapier angewendet werden. Zum raschen Br-Nachweis in Gegenwart von viel Chlorid hat sich DENIGÈS (**11**) des violetten Farbenumschlages mit $CuSO_4$ und konz. H_2SO_4 infolge Bildung von $CuBr_2$, HBr bedient.

VAN ITALLIE (**12**) hatte angenommen, daß das Jod in den Algen als Jodid vorliegt. Die Vermutung, daß es sich um organisch gebundenes Jod handelt [ESCHLE (**13**), WEIS], wird auch von OKUDA und ETO (**14**) geteilt, nach denen das meiste Jod in Meeresalgen in wasserlöslicher organischer Form vorhanden ist. Ein Protein soll aber nicht in Frage kommen, so daß an Eiweißkörper die dem von HUNDESHAGEN (**15**) aus Spongien angegebenen Jodspongin entsprechen, nicht zu denken wäre (**16**). GAUTIERs Annahme (**17**) daß sogar das Meerwasser fast nur organisches Jod enthält, welches sich aus abgestorbenen marinen Organismen regeneriert, ist unbewiesen und unwahrscheinlich.

---

1) E. PRIBRAM, Ztsch. physiol. Chem., *49*, 457 (1906). — **2**) FLÜCKIGER, Arch. Pharm., *25*, 519 (1887). Vgl. auch die Probe von JONES, Ber. chem. Ges., *17*, Ref. p. 53 (1884). — **3**) Jod in organ. Lösungsmitteln: M. LANDAU, Ztsch. physik. Chem., *73*, 200 (1910). — **4**) O. TUNMANN, Pharm. Zentr.halle, *48*, 505 (1907). — **5**) Vgl. A. HUNTER, Journ. biol. Chem., *7*, 321 (1910). — **6**) E. WEIS, Chem. Zentr. (1903), I, 1158. — **7**) E. RIEGLER, Ebenda (1903), II, 772. — **8**) M. C. SCHUYTEN, Chem.-Ztg., *19*, 1143 (1895); P. BOURCET, Compt. rend., *128*, 1120 (1899). H. BAUBIGNY u. G. CHAVANNE, Ebenda, *136*, 1197 (1903). R. BERNIER u. G. PÉRON, Journ. Pharm. et Chim. (7), *4*, 151 (1911). P. J. HANZLIK, Journ. biol. Chem., *7*, 459 (1910). E. WINTERSTEIN u. E. HERZFELD, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 49 (1909). E. C. KENDALL, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 894 (1912). F. BLUM u. R. GRÜTZNER, Ztsch. physiol. Chem., *91*, 392 (1914). — **9**) G. DENIGÈS, Compt. rend., *155*, 721 (1912). — **10**) J. GUARESCHI, Atti Acc. Sci. Torino, *48*, (1912). — **11**) G. DENIGÈS, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, *49*, 71 (1910). — **12**) L. VAN ITALLIE, Arch. Pharm., *227*, 1132 (1889). — **13**) ESCHLE, Ztsch. physiol. Chem., *23*, 30 (1897). — **14**) OKUDA u. ETO, Journ. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo, *5*, 341 (1916). — **15**) F. HUNDESHAGEN, Ztsch. angew. Chem. (1895), p. 473. — **16**) Vgl. OSWALD, Ztsch. physiol. Chem., *75*, 353 (1911). — **17**) A. GAUTIER, Compt. rend., *128*, 1101 (1899).

Daß in besonderen kleineren Zellen der Rinde jüngerer Sprosse und an den Cystocarpien („Blasenzellen") mancher Florideen eine Verbindung vorkommt, die sehr leicht freies Jod abspaltet, hat GOLENKIN (1) gezeigt. Der Sitz dieser Jodverbindung sind die Zellvacuolen. Starke Reaktion auf Jod geben Bonnemaisonia asparagoides und Spermothamnien roseolum; negativ verhält sich nach KYLIN (2) Ceramium tenuissimum. Die beiden erwähnten Algen färben Stärkekleister oder damit appretiertes Papier blau. Beschleunigt man die Reaktion durch Zugabe von Nitrit, so kann man nach KYLIN sehen, daß auch von den übrigen Thalluszellen freies Jod geliefert wird. Ein analoger Fall ist übrigens aus dem Tierreiche von Sekreten von Käfern bekannt (3). Die Natur dieser labilen Jodverbindung ist nicht aufgeklärt.

Hinsichtlich des Broms ist zu bemerken, daß auch hier organische Bindung in den Meeresalgen vorliegen dürfte. Organisch gebundenes Brom kennt man aus dem Tierreich vom Skelett der Hornkorallen und von der Purpurdrüse der Schnecken (Dibromtyrosin und Dibromindigo) (4).

§ 2.

Die Resorption von Mineralstoffen durch Algen.

Bei den submers lebenden Algenformen (nur solche sind bisher einschlägigen Untersuchungen unterworfen worden) werden die Mineralstoffe, wie die Nahrungsstoffe überhaupt, durch die ganze Körperoberfläche in das Innere des Organismus aufgenommen, und es ist bisher kein Fall bekannt, in welchem eine Arbeitsteilung hinsichtlich der Stoffaufnahme vorliegen würde. Die Wurzeln (Rhizoiden) sind so viel bekannt, ausschließlich Haftorgane, wenn es auch nicht unmöglich ist, daß an ihnen lokalisiert lösende Wirkungen auf das Substrat ausgeübt werden.

Daß Kalkalgen mit ihrem festsitzenden Teil die Steine und Felsen, welchen sie anhaften, korrodieren, ist speziell für Euactis calcivora und Hydrocoleum calcilegum in den Schweizer Seen durch FOREL (5) und später durch F. COHN (6) naher ausgeführt worden. BORNET und FLAHAULT (7) haben die Korrosion von Molluskenschalen durch Hyella caespitosa und Gomontia polyrrhiza geschildert; die Cyanophycee Mastigocoleus testarum Lagerh., von der es eine marine und eine in Süßwasser lebende Form gibt, korrodiert nach NADSON (8) Kalkgestein und Austernschalen; BOYSEN-JENSEN (9) berichtet über Steinkorrosion durch eine Nostocacee. CAYEUX (10) vermutet Spuren von Algenkorrosionen im oolithischen Eisen. Nach RUDAS (11) bewohnt eine Grünalge, Chlorococcus ossicolus, abgestorbenes Knochengewebe. Wahrscheinlich ist es hauptsächlich der innige Kontakt mit dem Substrat, welcher diese Wirkungen vermittelt, die man im näheren vermutlich auf Kohlensäureproduktion zu beziehen hat (12); um eine spezifische Wirksamkeit der Haftorgane, welche

1) M. GOLENKIN, Bull. Soc. Nat. Moscou (1894), p. 257. Auch D. ROBERTSON, Transact. Hist. Soc. Glasgow (1896), p. 172. — 2) H. KYLIN, Arkiv f. Botanik, *14*, Heft 5 (1915). — 3) Vgl. v. FÜRTH, Vergl. chem. Physiologie (1903), p. 364. — 4) C. TH. MÖRNER, Vidensk. selsk. skrift., *8*, 1 (1916). — 5) FOREL, Bull. Soc. Vaudois., *16*, 173 (1879). — 6) F. COHN, Schles. Ges. (1893), p. 19. Botan. Zentr., *68*, 318 (1896). — 7) BORNET u. FLAHAULT, Journ. de Botan. (1888). — 8) G. A. NADSON, Bull. jard. imp. Botan. Petersb., *10*, 151 (1910). — 9) P. BOYSEN JENSEN, Internat. Rev. Hydrobiol., *2*, 163 (1909). — 10) L. CAYEUX, Compt. rend., *158*, 1539 (1914). — 11) G. RUDAS, Verhandl. Nas. Ges. (1909), II, *1*, 156. — 12) Hierzu auch E. BACHMANN, Ber. bot. Ges., *33*, 45 (1915).

den übrigen Teilen der Algen nicht zukommt, handelt es sich wahrscheinlich nicht.

Da durch anorganische Neutralsalze der Alkalien uud Erdalkalien bei entsprechender Konzentrationssteigerung in der Regel leicht Plasmolyse eintritt, so pflegt man die Permeabilität der Plasmahaut für diese Mineralstoffe gering einzuschätzen. Versuche von Duggar (**1**) zeigten jedoch, daß bei Meeresalgen isosmotische Lösungen von NaCl, KNO_3 und Rohrzucker nicht die gleiche plasmolytische Wirkung haben, sondern dieselbe in der Reihenfolge $KNO_3 < NaCl < Zucker$ wachsend verschieden ist. Diese Erfahrungen wurden von dem genannten Forscher in dem Sinne gedeutet, daß die Ionen spezifische, bis zur Giftwirkung steigerbare Effekte besitzen. Für das ganze Problem erscheint gegenwärtig die hauptsächlich durch die Arbeiten von Loeb und Osterhout begründete, sodann durch die im Prager Laboratorium durch Endler, Szücs, Nothmann-Zuckerkandl, Krehan verschiedenfach näher untersuchte Annahme wichtig, daß die Plasmahaut als hydrokolloides System mit bestimmten Mengenverhältnissen adsorbierter Salze aufzufassen ist. Zutreffenden Ausdruck hat diese Meinung auch in einer Arbeit von Lenk (**2**) gefunden. Je näher die umspülende Salzlösung in ihrer Zusammensetzung und Konzentration der Ionenmischung in der Plasmahaut kommt, desto vollkommener ist die „physiologische Balance". In dieser Hinsicht ist es wichtig, daß nach Osterhout (**3**), ebenso nach Micheels (**4**) das Seewasser die geeignetste Salzmischung darstellt, in genügender Verdünnung auch für Süßwasseralgen. Dabei ist zu beachten, daß, wie Osterhout richtig betont, die Bedeutung der Salzlösung als „physiologische Lösung" und „Nährlösung" nicht parallel gehen muß. Je konzentrierter die Salzlösung, desto nötiger ist die Äquilibrierung der Ionen; sehr verdünnte Lösungen werden auch in weit abweichender Zusammensetzung als Nährlösung vertragen. Als Ersatz des Seewassers kommt vor allem die von van't Hoff angegebene Salzmischung in Betracht: 100 Moleküle NaCl, 2,2 Mol. KCl, 3 Mol. $CaCl_2$, 7,8 Mol. $MgCl_2$ und 3,8 Mol. $MgSO_4$ mit einem Zusatz von $NaHCO_3$ (**5**). Die von Herbst (**6**) als Ersatz des Seewassers verwendete Lösung war pro 1 l dest. Wasser 3 g NaCl, 0,08 g KCl, 0,66 g $MgSO_4$, 0,13 g $CaCl_2$ und 1 ccm einer 4,948%igen $NaHCO_3$-Lösung. Die von Mc Clendon (**7**) verwendete Mischung war auch für die empfindlichsten Meeresorganismen geeignet. Man mischt Normallösungen der einzelnen Salze in folgendem Verhältnis:

$CaCl_2$ 22 ccm, $MgCl_2$ 50,21 ccm, $MgSO_4$ 57,09 ccm, KCl 10,23 ccm,
NaCl 483,65 ccm, NaBr 0,8 ccm, $NaHCO_3$ 2,32 ccm,

fügt 373,63 ccm Wasser hinzu und durchlüftet. Daß es bei allen diesen Lösungen sehr auf den Gehalt an Wasserstoffionen ankommt, ist selbstverständlich. Den „Ionenantagonismus" zwischen den in diesen Lösungen

---

1) B. M. Duggar, Transact. Acad. Sci. St. Louis, *16*, 473 (1906). Vgl. auch Buchheim, Dissert. Bern, 1915, für Süßwasseralgen. — **2**) E. Lenk, Die Naturwissenschaften, *1*, 659 (1913). — **3**) W. J. V. Osterhout, Journ. biol. Chem., *1*, 363 (1906); Univ. Californ. Publ. Bot., *2*, 231 (1906); (1907) *3*, 317; Botan. Gaz., *44*, 259 (1907). Vgl. auch L. J. Henderson, Die Umwelt des Lebens. Deutsche Übers. Wiesbaden 1914. — **4**) H. Micheels, Bull. Acad. Belg. (1911), Heft 2, p. 110. — **5**) Vgl. J. Loeb, Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig 1906, p. 117. — **6**) C. Herbst, Arch. f. Entw.mech., *17*, 306 (1903). Vgl. M. Henze, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., III, *2*, 1108 (1910). — **7**) J. F. Mc Clendon, Journ. Biol. Chem., *28*, 135 (1916).

enthaltenen Bestandteilen hat OSTERHOUT genau erörtert. Für Vaucheria sessilis ließ sich bestimmt die Schädigung durch reines NaCl und die Entgiftung von Na durch Ca nachweisen (1); für Spirogyra ergab sich der Antagonismus von K und Mg (2). Für Meeresalgen ist jedes der Salze des Seewassers für sich allein schädlich und die toxischen Wirkungen heben sich bei Darreichung der Salzmischung ebenso auf wie bei Tieren (3). Zur Erklärung der antagonistischen Wirkungen sucht man mit der Annahme auszulangen, daß es sich um Adsorptionsverdrängungen handelt. In der Tat scheinen sich alle bekannt gewordenen Erscheinungen auf dieses Prinzip zurückführen zu lassen. Auch die früheren Erfahrungen NATHANSONS (4) über „regulatorische Änderungen" im osmotischen Verhalten der Plasmahaut scheinen eine entsprechende Deutung zu vertragen. Wenn bei Darreichung einer 1,4 %igen NaCl-Lösung eine erhebliche Vermehrung der Chloridkonzentration des Zellsaftes von Codium tomentosum bei gleichzeitiger Darreichung von 3 %- oder 2 %iger $NaNO_3$-Lösung stattfand, nicht aber, wenn die Nitratlösung nur 1 %ig war, so könnte auch ein derartiger Erfolg auf die Verdrängung des Cl' durch NO_3' zurückzuführen sein.

Herabsetzung der äußeren Salzkonzentration bei Verdünnung des Seewassers wirkt auf die einzelnen Organismen verschieden stark ein. OSTERHOUT (5) hat über die Resistenz der Meeresalgen gegen Veränderungen im osmotischen Druck nähere Nachweise geliefert. Das Bewegungsvermögen von Protozoen wird in reinem destillierten Wasser vermindert und aufgehoben (6). Hingegen fand LOEB (7) für die Entwicklung von Fischeiern (Fundulus) destilliertes Wasser nicht hemmend, Zusatz von NaCl giftig. Wie OLTMANNS (8) dargelegt hat, ist es in der Natur der häufige Wechsel im Salzgehalt, welcher oft das Gedeihen der Algen behindert, und damit hängt es zusammen, daß in der Ostsee, woselbst der Salzgehalt weniger konstant ist, sich die Algen in größere Tiefen zurückziehen, wo weniger Wechsel im Salzgehalte herrscht, während in der Nordsee unter gleichmäßigeren Bedingungen dieselben Arten in der Nähe der Meeresoberfläche wachsen. Auch die Anpassungsfähigkeit von Süßwasseralgen an Salzlösungen höherer und niederer Konzentration ist nicht vorher zu bestimmen und stellt in jeder Hinsicht ein verwickeltes Problem dar. A. RICHTER (9) hat gezeigt, daß eine nicht geringe Anzahl von Süßwasseralgen, wie Cyanophyceen, Diatomeen und Chlorophyceen imstande ist, sich NaCl-Lösungen kleinerer und größerer Konzentration zu akkommodieren, darin zu wachsen und fortzupflanzen. Dabei erfolgen aber oft auffallende Gestaltsänderungen als formative Reizwirkungen der gesteigerten osmotischen Wirkung des äußeren Mediums (10). Bei Diatomeen fand O. RICHTER (11) noch Anpassung bis zu 2 % NaCl in Gelatinekultur möglich. Für Vaucheria sessilis aber,

---

1) OSTERHOUT, Botan. Gaz., *44*, 259 (1907). — 2) OSTERHOUT, Univ. of Calif. Publ., *2*, 235 (1906). — 3) OSTERHOUT, Botan. Gaz., *42*, 127 (1906). — 4) A. NATHANSOHN, Jahrb. wiss. Bot., *38*, 241 (1903). — 5) OSTERHOUT, Univ. of Californ. Publ. Botan., *2*, 227, 229 (1906). — 6) A. W. PETERS, Amer. Journ. Physiol., *21*, 105 (1908). — 7) J. LOEB, Arch. Entw.mechan., *31*, 655 (1911). — 8) F. OLTMANNS, Sitz.ber. Berlin. Akad., *10*, 193 (1891). — 9) A. RICHTER, Flora (1892), p. 4; K. TECHET, Österr. botan. Ztsch. (1904). Ferner auch FAMINTZIN, Mélang. Biol., *8* (1871), und die im folgenden angeführten Arbeiten von KLEBS, BENECKE, MOLISCH. Ferner A. ARTARI, Jahrb. wiss. Botan., *40*, 593 (1904); *43*, 177. — 10) Für Coelastrum proboscoideum vgl. TSCH. RAYSS, Thèse Genève 1915. Daten für den Turgordruck in einigen Süßwasseralgen gab BUCHHEIM, Dissert. Bern, 1915. Die Zahlen liegen zwischen 7,75 und 13,5% Rohrzucker. — 11) O. RICHTER, Sitz.ber. Wien. Akad., *115*, I (1906).

welche in destilliertem Wasser 3—4 Wochen lebt, ist nach OSTERHOUT (1) NaCl sehr giftig. Für Chlorella luteoviridis Chod. fand KUFFERATH (2) das Salzoptimum bei 0,55 %. Über Chlamydomonadineen (Dunaliella) berichtete ARTARI (3). Höhere Algenformen sind im allgemeinen weniger zu diesen Anpassungen befähigt als die im System niedriger stehenden. Nach Erfahrungen von O. RICHTER (4) vertragen nicht wenige Algen 20 % $MgSO_4$-Lösungen, auch Diatomeen. Für die Giftwirkung des Seewassers für Süßwassertiere hat DERNOSCHECK (5) die Bedeutung der Salzionen-Eiweißverbindungen im Zusammenhange mit Adsorptionswirkungen, die neben den osmotischen Wirkungen hauptsächlich eine Rolle spielen, näher dargelegt.

Die Frage, welche Mineralstoffe von Algen unbedingt benötigt werden, und welche in ihren Wirkungen etwa durch andere ersetzt werden können, ist in neuerer Zeit durch mehrere Forscher gefördert worden (6). Gute Versuchsobjekte hat man in einer Reihe resistenter Süßwasseralgen, welche in wässerigen Nährlösungen leicht gedeihen. Die vervollkommnete Technik der Agar-Reinkultur von Algen (7) hat gleichfalls wertvolle Ergebnisse gezeitigt. Wenig bekannt ist jedoch die Gesamtheit der Meeresalgen, bei denen die Schwierigkeiten, normale Kulturen zu erhalten, noch nicht überwunden sind.

MOLISCH (8) kultivierte Protococcus infusionum und Stichococcus bacillaris in möglichst kalifreien Nährlösungen und fand, daß man den Entgang von Kali in keiner Weise zu ersetzen vermag; die Kulturen gingen stets ein. Natron war unwirksam, Caesium verhinderte die Algenentwicklung ganz, auch Rubidium und Lithium waren schädlich. BOKORNY (9) beobachtete an Spirogyra-Zellen, welche an Kalimangel litten, auffällige Deformationen; doch ist nach REED (10) Zellstreckung ohne Kali möglich. KLEBS (11) erklärte auf Grund seiner Erfahrungen gleichfalls das Kalium für unentbehrlich und unersetzlich; ebenso wurde BENECKE (12) durch seine Ergebnisse zur Annahme geführt, daß Kali unbedingt nötig sei. Einige Versuche mit Cyanophyceen ließen ihn allerdings erwägen, ob es nicht Algen gibt, welche keinen Unterschied zwischen K- und Na-Salzen machen, und WEEVERS (13) fiel es auf, daß der mikrochemische Kalinachweis bei Cyanophyceen mißlang.. Doch haben die eingehenden Untersuchungen von MAERTENS (14) für Oscillarien und Nostoc gezeigt, daß auch hier Kali nicht durch Natronsalze ersetzt werden kann. Nach WEEVERS sind die Chromatophoren der Algen kalifrei; bei Spirogyra sind alle Kaliverbindungen nach dem Tode wasserlöslich.

---

1) OSTERHOUT, Journ. Biol. Chem., *1*, 363 (1906). — 2) H. KUFFERATH, Rec. Inst. Bot. Léo Errera, *9*, 113 (1913). — 3) A. ARTARI, Jahrb. wiss. Botan., *53*, 527 (1914). — 4) O. RICHTER, Anzeig. Wien. Ak., 1919, Nr. 15. Über halophile Algen aus Salzbergwerken: NAMYSLOWSKI, Bull. internat. Acad. Cracov. B (1914), p. 526. — 5) A. DERNOSCHECK, Pflüg. Arch., *143*, 303 (1911). — 6) Übersicht: FR. OLTMANNS, Morphol. u. Biolog. d. Algen (1905), Bd. II, p. 133. O. RICHTER, Die Ernährung d. Algen. Leipzig 1911 (Monograph. u. Abhandl. zur internat. Rev. der gesamt. Hydrobiologie, Bd II), p. 3—20; 63. — 7) Vgl. E. G. PRINGSHEIM, Beitr. z. Biol. d. Pfl., *11*, 305 (1912). Über Kultur von Chara in Nährlösungen: PATSCHOWSKY, Ber. bot. Ges., *37*, 404 (1919). — 8) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *105*, I, 636 (1896). — 9) TH. BOKORNY, Biol. Zentr., *12*, 321 (1892). — 10) H. S. REED, Ann. of Botan., *21*, 501 (1907). — 11) G. KLEBS, Beitr. z. Fortpflanz. bei einigen Pilzen u. Algen (1896). — 12) W. BENECKE, Botan. Ztg. (1898), I, 93. — 13) TH. WEEVERS, Rec. trav. botan. Néerl., *8*, 289 (1911). — 14) H. MAERTENS, Beitr. z. Biol. d. Pfl., *12*, 439 (1914); Dissert. Halle 1915.

Natronsalze sind aber voraussichtlich bei marinen Algen in weitem Umfange unersetzlich. OSTERHOUT (1) fand, daß Mg-, Ca- und K-Salze am ehesten für Na im Seewasser-Salzgemisch eintreten können, doch ist Natron durch kein anderes Metall voll zu ersetzen. An Reinkulturen der farblosen Meeres-Diatomee Nitzschia putrida Benecke wies O. RICHTER (2) ausführlich nach, daß Darreichung von Natronsalz zum Leben unbedingt notwendig ist.

Während früher allgemein angenommen wurde, daß Kalk für sämtliche Algen ein unentbehrlicher Nahrungsbestandteil sei, haben die Untersuchungen von MOLISCH (3) für eine Reihe niederer Algentypen: Microthamnion Kützingianum, Stichococcus bacillaris, Protococcus, Ulothrix subtilis, ergeben, daß diese Organismen völlig normal in absolut kalkfreien Nährlösungen gedeihen. Für Hormidium nitens (welches vielleicht mit der von MOLISCH als Stichococcus bacillaris angewendeten Algenform identisch ist), ebenso für Chlamydomonas longistigma und verschiedene Protococcusformen, erhielt BENECKE das gleiche Ergebnis. Auch WINOGRADSKY (4) dürfte bei seinen Untersuchungen über Clostridium Pasteurianum schon Ca-freie Algenkulturen in Händen gehabt haben. Aus der Beobachtung von A. MEYER (5), daß im Zellsafte von Valonia utricularis Ca nicht nachzuweisen ist, konnte man noch keinen Rückschluß auf die Entbehrlichkeit von Kalkverbindungen für diese Alge ziehen. Der Zellsaft gab 3,244 % Trockenrückstand; davon waren 0,118 % $MgSO_4$; 0,022 % Kaliumphosphat, 0,146 % K_2SO_4, 2,60KCl, 0,12 % NaCl und 0,238% organische Substanz. Das Meerwasser verhält sich zur Zellsaftkonzentration im Salpeterwerte wie 3:2. Für Spirogyra und Vaucheria zeigte MOLISCH die Unentbehrlichkeit von Kalkverbindungen. BOKORNY (6) machte darauf aufmerksam, daß Spirogyra, Zygnema und Mesocarpus in kalkfreier Lösung eine Massenabnahme ihres Chlorophyllapparates erfahren und eingehen. Ebenso bestätigten KLEBS und BENECKE die Notwendigkeit der Kalknahrung für die genannten höheren Algen. O. LOEW (7) hob hervor, daß an dem Zellkern von Spirogyra durch kalkfällende Mittel, wie Kaliumtetroxalat, charakteristische Veränderungen eintreten, die er als Folge der Kalkentziehung deutete. Daß Kalk für zahlreiche Algen nötig ist, kann also nicht mehr bezweifelt werden. Außerdem fand ANDREESEN (8) für Desmidiaceen (Closterium) Kalk nötig; nach KUFFERATH (9) ist für Porphyridium cruentum Kalk günstig; aber nach MAERTENS (10) bedürfen auch Blaualgen (Oscillatorien und Nostoc) unbedingt einer kalkhaltigen Nährlösung. Hinzugefügt sei, daß Kalkentziehung bei den Kalkschwämmen aus der Ordnung der tierischen Spongiarier nach MAAS (11) Degenerationserscheinungen und Bildung von Spiculoiden aus organischer Substanz zur Folge hat. Ferner wies RICHTER nach, daß die Diatomee Nitzschia Palea zu ihrer Entwicklung Kalk benötigt (12).

---

1) W. J. V. OSTERHOUT, Botan. Gaz., *54*, 532 (1912). — 2) O. RICHTER, Verh. Nat. Ges. (1909), II, *1*, 159; WIESNER-Festschrift, Wien 1908, p. 167; Sitz.ber. Wien. Akad., *118*, I, 1337 (1909); Denkschr. Wien. Ak., *84*, 660 (1909). — 3) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *104*, I, 783 (1895); M. ADJAROFF, Recherch. exp. sur la Physiol. de quelques Algues vertes, Genève 1905. — 4) WINOGRADSKY, Arch. Sci. Biol., Pétersbourg, *3*, (1895). — 5) A. MEYER, Ber. botan. Ges., *9*, 77 (1891). Vgl. auch A. HANSEN, Stoffbildung bei Meeresalgen, Mitteil. zool. Stat. Neapel, *11*, 255 (1893). — 6) BOKORNY, Botan. Zentr., *62*, 1 (1895). — 7) O. LOEW, Flora, *105*, 447 (1913); Bull. Coll. Agric. Tokyo, *7*, 7 (1906). — 8) A. ANDREESEN, Flora, *99*, 373 (1909). — 9) H. KUFFERATH, Bull. Soc. Roy. botan. Belg., *52*, 286 (1913). — 10) H. MAERTENS, Beitr. Biol. d. Pfl., *12*, 439 (1914). — 11) O. MAAS, Sitz.ber. Münch. Morph.phys. Ges., *20*, 4 (1905). — 12) O. RICHTER, Sitz.ber. Wien. Akad., *115*, I, 51 (1906).

Nach MRAZEK (1) wachsen Fragilaria und Meridion nur bei Zugabe von Ca; Amphora gedeiht zwar auch kalkfrei, wird aber im Wachstum durch Ca gefördert.

Beigabe von Strontiumsalz kann nach MOLISCH bei Spirogyra den Tod durch Kalkhunger wohl verzögern, aber nicht verhindern. Auch LOEW (2) fand, daß Strontiumchlorid relativ lange Zeit vertragen wird, bis zu 1%, ehe schädliche Wirkungen erscheinen. Barytsalze werden weit weniger von Algen vertragen.

Magnesiumsalz muß nach den übereinstimmenden Angaben aller Forscher den Algennährlösungen unbedingt zugesetzt werden, und keine einzige Algenform war in magnesiumfreier Kultur zum Wachstum zu bringen. BOKORNY sah als Folge von Mg-Mangel bei Conjugaten Schrumpfung des Zellkerns eintreten. Nach REED (3) verhindert Mg-Mangel bei Vaucheria die Ölbildung in den Chlorophyllkörnern, und bei Spirogyra ist die Mitose ohne Mg verlangsamt. Doch dauert es nach BENECKE in vielen Fällen lange, ehe die Folgen des Mg-Mangels in Erscheinung treten. Reine Mg-Salzlösung wirkt giftig und wird nach LOEW durch Kalk vollständig entgiftet, durch Kali nur stark in ihrer Wirkung verzögert.

Eisen hält MOLISCH auch bei Algen für einen unentbehrlichen Nahrungsbestandteil, von dem allerdings nur sehr kleine Mengen nötig sind. Die Aufnahme von Eisensalzen in die Zelle suchte BOKORNY (4) zu verfolgen. Chlorose durch Eisenmangel, wie bei höheren Pflanzen, kennt man von keiner Alge (5). Sicher ist es, daß auch bei verschiedenen Algen Eisensalze als chemische Wachstumsreize wirken; sowohl das Ferro- als das Ferri-Ion ist wirksam. Doch sah BENECKE diese Wirkungen nicht regelmäßig eintreten. ONO (6) fand für Hormidium nitens die beste Wirkung von $FeSO_4$ bei 0,0005%; jedoch bedingte noch 0,0126% einen größeren Ernteertrag als in den Kontrollversuchen. Andere Schwermetallsalze entfalten analoge Reizwirkungen. Für Zinksulfat fand ONO optimale Wirkung bei 0,00006% bis 0,0003%; auch Nickelvitriol und Cobaltosulfat waren Reizmittel. Hingegen wirkte $CuSO_4$ nur bei Pilzen, nicht aber bei Algen als Wachstumsreiz. $HgCl_2$ war nur hemmend. Reizmittel scheinen ferner Lithiumnitrat, Fluornatrium (0,00003%), Arsenite und Arsenate zu sein. Arsenite sind nach LOEW schädlicher als arsensaure Salze (7). Bor ist nach LOEW (8) nicht sehr wirksam. Die Aufnahme von Silber in Algenzellen haben LOEW und BOKORNY (9) ausführlich nachgewiesen. Bei Darreichung sehr verdünnter und ganz schwach alkalischer Silbernitratlösung wird in den Zellen fein verteiltes metallisches Silber niedergeschlagen. Die von den genannten Autoren an diese Erscheinung geknüpften weitgehenden Folgerungen können jedoch nicht angenommen werden (10).

Die Phosphorsäure ist nicht, wie BOUILHAC (11) angegeben hatte, für niedere Algenformen erfolgreich durch Arsensäure zu ersetzen. Die Versuche von MOLISCH schließen diese Möglichkeit entschieden aus, und PO_4

---

1) V. MRAZEK, Botan. Zentr., *129*, 379 (1914). — 2) O. LOEW, Flora (1892), p. 392; *102*, 96 (1911). Siehe auch O. RICHTER, Die Ernährung der Algen, Monographien u. Abh. z. internat. Revue der ges. Hydrobiologie, Bd. II; Leipzig 1911. — 3) H. S. REED, Ann. of Botan., *21*, 501 (1907). — 4) TH. BOKORNY, Ber. botan. Ges., *7*, 274 (1889). — 5) Nach unveröffentlichten Beobachtungen von Dr. BORESCH im Prager Institute bilden bestimmte Cyanophyceen eine Ausnahme. — 6) N. ONO, Journ. Coll. Sci. Tokyo, *13*, I, 161 (1900). — 7) O. LOEW, Natürl. System d. Giftwirkungen (1893), p. 19. — 8) O. LOEW, Flora (1892), p. 374. — 9) LOEW u. BOKORNY, Botan. Zentr., *38*, 581 (1889); *39*, 369 (1889); *40*, 161. — 10) Vgl. W. PFEFFER, Flora (1889), p. 46. — 11) R. BOUILHAC, Compt. rend., *119*, 929 (1894).

ist als ganz unentbehrlicher Nährstoff für alle Algenformen anzusehen. Spirogyra wird nach REED (1) durch Phosphormangel sehr stark geschädigt. Die Aufnahme organischer PO_4-Verbindungen (Nucleinphosphor) wurde an Chlamydomonas reticulata durch TEODORESCO (2) verfolgt und hierbei die Wirksamkeit einer Nuclease festgestellt. Fast gänzlich unbekannt ist die Resorption von Schwefelverbindungen und deren Modalitäten bei Algen. Man nimmt auf Grund der bisher erzielten (doch nicht näher zergliederten) Erfahrungen an, daß für höhere Algen Sulfate am günstigsten wirken. Ob dies allgemein gilt, weiß man aber nicht. Daß Schwefelverbindungen ein unentbehrlicher Nahrungsbestandteil sind, steht wohl außer Frage.

Darreichung von Kieselsäure und Chloriden war für die von MOLISCH und BENECKE studierten Algenformen entbehrlich. Hingegen hat sich die Vermutung, daß Diatomeen Kieselsäure nötig haben, bestätigt. O. RICHTER (3) wies für Nitzschia palea und putrida nach, daß diese Algen ohne Silicatdarreichung in Agarkultur nicht wachsen. Bemerkenswerterweise wirkt Kaliumsilicat ohne Ca nicht, während Calciumsilicat $CaSi_2O_5$ günstigen Erfolg bringt. Über die Bedeutung von Jod und Brom für die Meeresalgen ist nichts bekannt. WYPLEL (4) hat eine Reihe vergleichender Versuche über die Wirkung von halogenwasserstoffsauren Salzen auf Algenzellen angestellt, welche, von neueren physikochemisehen und physiologischen Gesichtspunkten geleitet, wieder aufzunehmen wären.

Das Verhalten von Algen gegen verschiedene Konzentrationen freier $H^{\cdot}$ und OH'-Ionen haben MOLISCH und BENECKE behandelt. Das gut untersuchte Hormidium nitens wächst gleich freudig in schwachsaurer und schwach alkalischer Lösung. Die genauen Grenzen wurden aber damals nicht berücksichtigt. In den vor Lichtzutritt nicht geschützten Wasserkulturen von Landpflanzen, welche man bekanntlich bei schwach saurer Reaktion hält, kann man das Gedeihen ähnlicher Algenformen beobachten. Spirogyra orbicularis Ktzg. wird nach MIGULA (5) durch 0,05 % freie H_3PO_4 zum Absterben gebracht. Vaucheria repens ist nach BENECKE leicht in saurer Nährlösung zu züchten, während die nahe verwandte V. fluitans Klebs darin schnell abstirbt. Hier dürften manche unzureichend bekannte Anpassungsverhältnisse mitspielen. Auch MICHEELS (6) gibt für einige Meeresalgen: Dictyota, Caulerpa, Ulva, Valonia-Arten, sowie für Meerestiere, an, daß anodische (basische) Lösungen immer schädlich seien, hingegen kathodische eher günstig wirken. Das Seewasser, dessen $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration durch SÖRENSEN und PALITZSCH (7) genau festgestellt worden ist, ist bekanntlich praktisch als neutrale bis sehr schwach alkalische Flüssigkeit anzusehen. Die gefundenen Wasserstoffexponenten liegen zwischen 6,6 und 8,6. MOLISCH hat auf die Vorteile ganz schwach alkalischer Reaktion der Kulturflüssigkeit für die von ihm studierten Algenformen, sowohl Cyanophyceen als höhere Algen, hingewiesen. Zur Erreichung der passenden $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration benutzte man Zusatz von Dikaliumhydrophosphat oder Calciumcarbonat.

---

1) H. S. REED, Ann. of Botan., *21*, 501 (1907). — 2) E. C. TEODORESCO, Compt. rend., *153*, 300 (1912). — 3) O. RICHTER, Sitz.ber. Wien. Akad., *115*, I (1906); Verhandl. Nat. Ges. (1904), II, *1*, 249; Denkschr. Wien. Akad., *84*, 660 (1909); J. DE LAPPARENT, Compt. rend., *167*, 999 (1918). — 4) M. WYPLEL, Jahresber. Realgymn. Waidhofen a. d. Thaya, 1893; Botan. Zentr., *112*, 216 (1895). — 5) MIGULA, Dissert. Breslau (1889); O. LOEW, Pflüg. Arch. (1883), p. 112. — 6) H. MICHEELS, Arch. internat. Physiol., *10*, 341 (1911). — 7) S. P. L. SÖRENSEN u. S. PALITZSCH, Biochem. Ztsch., *24*, 387 (1910); Compt. rend. Carlsberg, *9*, 8 (1910).

Fünfzigstes Kapitel: Mineralstoffe der Flechten.

Die analytischen Ergebnisse hinsichtlich der in Flechten enthaltenen Aschenstoffe bieten manchen biologisch interessanten Gesichtspunkt. Die Menge der Mineralstoffe ist sehr verschieden. CHURCH bestimmte den Aschengehalt von Collema furvum zu 6,57% der Trockensubstanz. Für andere Flechtengruppen findet sich eine Anzahl von Analysen bei WOLFF (**1**) zusammengestellt, denen entnommen werden kann, daß der Aschengehalt für die meisten Strauchflechten nicht hoch steigt, während die an ihr Substrat angedrückt wachsenden Thalli (die allerdings unvollkommen gereinigt gewesen sein dürften) aschenstoffreicher zu sein pflegten. So enthielten an Asche in Prozenten der Trockensubstanz:

Ramalina fraxinea	2,72%	Chlorangium Jusuffii	16,01%
Cladonia rangiferina	1,14%	Gyrophora pustulata	4,30%
Usnea barbata	1,32%	Variolaria dealbata	17,55%
Cetraria islandica	0,74%	Parmelia scruposa	10,50%
Evernia prunastri	3,50%	Haematomma ventosum	5,26%
Cladonia pyxidata	6,09%	Biatora rupestris	9,50%
Cladonia bellidiflora	1,18%	Parmelia saxatilis	6,91%

KEEGAN (**2**) fand in Parmelia saxatilis 5,4% Asche, darin: lösliche Salze 13,3%, Kieselsäure und Beimengungen 5,5%, Ca 2,8%, Mg 1,8%, Fe- und Mn-Oxyde 20%, PO_4 4,1% und 1,1% SO_4.

In Cetraria islandica fand SALKOWSKI (**3**) 10,04% Wasser und 2,01% Asche, in Cladonia rangiferina 10,59% Wasser und 1,13% Asche. In der letztgenannten Flechte gab ELLRODT (**4**) 11,7% Wasser und 4,87% Asche an.

HANSTEEN (**5**) bestimmte für Cetraria islandica 6,99%, für Cetraria nivalis 1,39% Aschengehalt; NYGARD (**6**) fand für Cetr. islandica 2,85% Asche in der Trockensubstanz, was auf verschiedene Schwankungen im Mineralstoffgehalt dieser Flechte hindeutet.

In bestimmten Fällen ist der hohe Aschengehalt durch einen bedeutenden Gehalt an oxalsaurem Kalk bedingt, was schon BRACONNOT beobachtete. Eingehende Analysen verschiedener Flechten wurden schon von THOMSON, KNOP, GÜMBEL, ULOTH (**7**) und späteren Forschern vorgenommen. Der erwähnte hohe Gehalt an Kalk tritt in diesen Analysen öfter hervor; auch viel Kieselsäure wurde bei Untersuchung einer Reihe von Flechten konstatiert. Beachtung verdient der zuerst von GÜMBEL und JOHN (**8**), in neuerer Zeit von MOLISCH (**9**) beobachtete Gehalt vieler Flechten an Eisen, wodurch der Thallus rostbraune Färbung annehmen kann („formae oxydatae“ der Systematiker). Die Eiseneinlagerung besteht nach MOLISCH in Körnchen, welche der Außenfläche der Hyphenmembranen anliegen und soll aus einer Eisenoxyduloxydverbindung nicht näher bekannter Art zusammen-

---

1) WOLFF, Aschenanalysen, *1*, 135; *2*, 110. — **2**) KEEGAN, Chem. News, *114*, 74 (1916). — **3**) SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 105 (1919). — **4**) ELLRODT u. KUNZ, Brennereiztg., *35* (1918). — **5**) B. HANSTEEN, Chem.-Ztg., 1906, p. 638. — **6**) A. NYGARD, Farm. Notisblad (1909), Nr. 9, p. 125. — **7**) THOMSON, Lieb. Ann., *53*, 257 (1845); W. KNOP u. G. SCHNEDERMANN, Journ. prakt. Chem., *40*, 385 (1847); GÜMBEL, Wiener Denkschriften, *11*; ULOTH, Flora (1861), p. 568. — **8**) JOHN, Über die Ernährung d. Pflanzen (1819); C. MÜLLER, Hedwigia, *33*, 97 (1894). — **9**) H. MOLISCH, Die Pflanze in ihrer Bez. zum Eisen (1892), p. 21.

gesetzt sein. MOLISCH fand diese Erscheinung nur bei Urgebirgskrustenflechten, besonders Lecidea-Arten. Daß die Zusammensetzung des Subtrates auf die Zusammensetzung der Flechtenasche nicht geringen Einfluß hat, ist kaum zu bezweifeln und wird durch Analysen von ULOTH u. a. bestätigt. Doch entbehrt man der Anhaltspunkte, welche gesetzmäßigen Beziehungen hier obwalten und die Angelegenheit würde eine umfassende Bearbeitung von weiteren physiologischen Gesichtspunkten aus verdienen.

Mikrochemisch hat SALOMON (1) den Nachweis von Kali, Magnesia, Kalk, PO_4 in Hyphen und Flechtenalgen geführt. Meist verteilen sich diese Aschenstoffe in verschiedener Menge auf Flechtenpilz nud Alge. Kalk ist in sehr wechselnder Menge vorhanden. Mg ließ sich in Alge und Pilz nachweisen, die PO_4 scheint hauptsächlich von den Hyphen geliefert zu werden. In Cyanophyceengonidien konnte aus bisher unbekannten Gründen Kali nicht gefunden werden. Auch Versuche über Salzaufnahme aus Lösungen durch die Rhizoiden wurden angestellt.

Das Eindringen von Kalkflechten in ihr Gesteinsubstrat beruht nach BACHMANN (2) sicher auf lösenden Wirkungen, da man die Hyphen in größeren Kalkspatkrystallen eingebettet finden kann. Die Ansicht ZUKALS (3), wonach es sich um nachträgliche Umhüllung der Hyphen durch Kalkinkrustationen handelt, dürfte nicht stimmen. Nur epi- und endolithische Flechten haben die Fähigkeit, Kalk aufzulösen. Die energischste Wirkung dürfte an der Oberfläche der Gonidiengruppen und an den Hyphenspitzen stattfinden. Nach BACHMANN (4) vermögen bei Kalkflechten Chroolepus (Trentepohlia) Gonidien den kohlensauren Kalk selbständig aufzulösen. Die bekannten Tatsachen erklären sich wohl am einfachsten durch die Annahme, daß die produzierte Säure Kohlensäure ist. Schon 1859 hat GÖPPERT (5) darauf aufmerksam gemacht, daß auch die Urgebirgsgesteine: Granit, Glimmerschiefer, Gneis, bewohnenden Flechtenformen (Imbricaria-Arten, Sphaerophoron, Biatora) ihr Substrat lockern und erweichen und daß hierbei der Feldspat in Kaolin übergeht. Die daneben befindlichen Gesteinspartien bleiben ganz hart. Auch solche Wirkungen könnten durch CO_2-Wirkung hinreichend erklärt werden, wenn auch die Mitwirkung der von Flechten häufig produzierten Oxalsäure noch näherer Untersuchung bedarf. Nach den Feststellungen von BACHMANN (6) vermögen Flechten auf Granitsubstrat wohl die leicht spaltbaren Glimmerkrystalle zu durchwuchern, nicht aber die Quarz- und Orthoklasbestandteile. Diese Silicate können nur auf präformierten Haarspalten durchwachsen werden. Allerdings meinte STAHLECKER (7) auch Korrosion von Quarz durch die Flechtenhyphen festgestellt zu haben. Nach BACHMANN ist Lecidea crustulata auch in mehrjähriger Einwirkung nicht imstande, Bergkrystall anzugreifen; ebenso haften die Fußplatten der Rhizoiden von Parmelia rubaurifera nur mechanisch auf Flint. Jedenfalls sind in allen Fällen chemische und mechanische Faktoren bei der Zerstörung von Silicatgesteinsflächen durch Flechten beteiligt.

---

1) H. SALOMON, Jahrb. wiss. Botan., *54*, 309 (1914). — 2) E. BACHMANN, Ber. botan. Ges., *8*, 141 (1890); *10*, 30 (1892); *36*, 528 (1918). — 3) H. ZUKAL, Denkschrift. math.nat. Klasse kais. Ak. Wien, *48*. — 4) E. BACHMANN, Ber. botan. Ges., *31*, 3 (1913). — 5) GÖPPERT, 37. Jahresber. schles. Ges. Breslau, 1859; Landw. Vers.stat., *3*, 81. — 6) E. BACHMANN, Ber. botan. Ges., *22*, 101 (1904); *35*, 464 (1917); Jahrb. wiss. Botan., *44*, 1 (1907). — 7) EU. STAHLECKER, Untersuch. üb. d. Thallusbildung usw. bei Krustenflechten. Dissert. Stuttgart 1905.

Einundfünfzigstes Kapitel: Mineralstoffwechsel bei Moosen und Farnen.

§ 1.

Die Mineralstoffe der Moose.

Zur Veranschaulichung, wieviel an Aschenstoffen in Laub- und Lebermoosen vorhanden ist, mögen nachfolgende Zahlen dienen. LOHMANN (1) fand bei der Analyse von Lebermoosen: bei Fegatella conica 7,8%, Marchantia polymorpha 5,9%, Pellia epiphylla mit Kalkinkrustation 48,7% (kalkfrei gedacht 9%), Metzgeria furcata 8,7%, Mastigobryum trilobatum 3,0% Aschenbestandteile (Reinasche). In Prozenten der Reinasche waren vorhanden:

	Fe_2O_3 + Al_2O_3	Mn_2O_3	CaO	MgO	K_2O	Na_2O	P_2O_5	SO_3	Cl	SiO_2
Mastigobryum trilobatum	2,6	0,4	7,4	4,0	60,3	2,C	8,0	9,0	2,5	4,8
Fegatella conica . . .	3,3	Spur	15,0	8,6	36,6	6,4	7,8	13,3	6,4	5,0
Marchantia polymorpha .	2,2	„	22,4	10,8	34,3	2,7	8,3	10,5	6,1	3,3
Metzgeria furcata . . .	9,2	„	13,4	4,9	24,7	1,8	5,0	8,8	4,6	27,3

Sphagna wurden öfters analysiert und bei WOLFF (I, 135) findet sich eine Anzahl älterer Analysen wiedergegeben; die meisten zeigen aber durch ihre hohen Kieselsäurezahlen an, daß wenig gereinigtes Material vorlag; zwei von WEBSKY stammende anscheinend bessere Analysen gaben folgende Zahlen für Sphagnum:

Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
2,88	17,72	8,57	13,9	6,94	19,28	5,55	6,03	12,16	5,70
3,00	23,58	11,21	1,14	7,79	6,10	6,33	6,56	15,84	6,32

Die erste Analyse bietet einen Fall der hier öfter vorkommenden Eisenablagerungen. Auch Tonerde und Mangan wurden in Sphagnen öfter konstatiert. WEBER und EBERMAYER (2) fanden für einige Hypnaceen folgende Zahlen:

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure
Hypnum Schreberi . .	2,32	30,01	2,91	14,4	7,72	8,21	12,38	6,84	14,79
Hylocomium splendens	3,05	28,60	8,75	15,9	9,56	2,10	20,21	5,91	7,11
„ triquetrum	3,92	18,25	2,34	21,0	7,20	7,42	13,51	3,93	23,00

Die Zahlen, welche TREFFNER (3) für den Aschengehalt von verschiedenen Laubmoosen (Polytrichum, Sphagnum, Dicranum, Orthotrichum, Mnium, Funaria, Schistidium, Ceratodon, Climacium) angab, bewegen sich zwischen 1,9 und 6,39% des lufttrockenen Materials, stimmen also mit den übrigen Befunden überein; doch sind TREFFNERS Werte für Kieselsäure in manchen Fällen auffallend hoch gefunden worden. KOHL (4) sowie LOHMANN l. c. führen höhere SiO_2-Werte als 12—15% auf Verunreinigung

1) J. LOHMANN, Beihefte botan. Zentr., *15*, 229 (1903). — 2) R. WEBER u. E. EBERMAYER (1876), zit. bei WOLFF, *2*, 110. — 3) E. TREFFNER, Dissert. Dorpat 1881; Just (1881), I, 157 u. 191; Ber. chem. Ges., *14*, 2252 (1881). — 4) F. G. KOHL, Kalksalze und Kieselsäure i. d. Pfl. (1889), p. 201.

zurück. CHURCH (1) gab von Fontinalis antipyretica 2,82% Al_2O_3 und 24,53% Kieselsäure an.

Eine Analyse von Polytrichum commune durch KEEGAN (2) ergab im Oktober: 2,4% Asche; davon 16,4% lösliche Salze, 45,4% SiO_2, 7,3% CaO, 3,4 % MgO, 12,1% Eisen 4,3 % PO_4, 3,7% SO_4, etwas Mangan, Spuren von Cl. Im Juni enthielt die Asche 41,9% lösliche Salze und nur 16,3 % SiO_2.

Soweit dieses Tatsachenmaterial eine zusammenfassende Beurteilung zuläßt, ist der Aschengehalt der Moore meist niedrig; nur die blattartig entwickelten Thallome der Lebermoose geben analog den Laubblättern höherer Pflanzen höhere Werte für den Mineralstoffgehalt. Die Zahlen für Kali und PO_4 sind meist hoch und es zeigen auch hierin die thallösen Lebermoose Ähnlichkeit mit Laubblättern. Kalkinkrustation, Einlagerung von Eisenoxyd sind auch bei Moosen keineswegs seltene Vorkommnisse.

Für die Keimung der Moossporen und das Wachstum der Moospflänzchen ist nach REED (3) Kali nötig, doch kann in einigen Fällen wenigstens in den ersten Keimungsstadien das Natron für K erfolgreich eintreten. Kali soll ferner für die Stärkebildung und die karyokinetische Kernteilung der Moose nötig sein. Nach KESSLER (4) hängt der Keimungsprozeß der Moossporen aber auch sehr von dem $H^{\cdot}$-Ionengehalt der Nährlösung ab. Die kalkholden Moose bevorzugen leicht alkalische Reaktion und der Kalk wirkt eben dadurch, daß er den günstigen H -Ionengehalt herstellt. Für andere Moose ist ein höherer $H^{\cdot}$-Ionengehalt zur Sporenkeimung nötig. Daß aber Kalk und Magnesia überall zur Ernährung der Moose nötig sind, dürfte kaum einem Zweifel unterliegen. Mit Protonemakulturen von Moosen arbeiteten SERVETTAZ, sowie GURLITT (5). Moosprotonemen entwickeln sich leicht in sterilisierten verdünnten Salzlösungen, vertragen aber kaum mehr als 0,5% Salzkonzentration. Kalk, Kali und Eisen sind unentbehrlich, der erstere wird reichlicher verbraucht als Mg und Fe. P und S sind unentbehrlich, Cl scheint nutzlos zu sein. Hinsichtlich der Haarwurzelbildungen, welche bei manchen Moosen, wie bei den thallösen Lebermoosen, immerhin eine gewisse (noch nicht näher abgegrenzte) Bedeutung für die Mineralstoffaufnahme besitzen, sei auf die Ausführungen von DACHNOWSKI (6) verwiesen. Die sogenannte „Kalkfeindlichkeit" der Sphagna beruht nach PAUL (7) auf der erwähnten Wirkung des Calciumcarbonates auf die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration im Substrat. Die Torfmoose gehören zu jenen Moosen, welche ein Herabdrücken der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration bis unterhalb die Neutralitätsgrenze nicht vertragen. Um eine Wirkung des Ca-Ions handelt es sich nicht.

§ 2.

Die Mineralstoffe der Farnpflanzen.

Obwohl sich die Pteridophyten in den Verhältnissen ihres Stoffwechsels größtenteils den Blütenpflanzen anschließen und daher eine gesonderte

---

1) A. H. CHURCH, Proc. Roy. Soc., *44*, 121 (1888). — 2) KEEGAN, Chem. News, *112*, 295 (1915). — 3) H. S. REED, Ann. of Botan., *21*, 501 (1907). — 4) B. KESSLER, Beihefte botan. Zentr., *31*, I, 358 (1914). Einschlägige Versuche ferner bei P. BECQUEREL, Compt. rend., *139*, 745 (1904). — 5) SERVETTAZ, Ann. Sci. nat. (9), *17*, 111 (1913). L. GURLITT, Beihefte botan. Zentr., *35*, I, 279 (1918). — 6) A. DACHNOWSKI, Jahrb. wiss. Bot., *44*, 254 (1907). — 7) H. PAUL, Ber. botan. Ges., *24*, 148 (1906); Mitteil. der kgl. bayr. Moorkulturanstalt, Heft 2 (1908). SKENE, Ann. of Botan., *29*, 65 (1915).

Besprechung ihres Mineralstoffwechsels nicht in jeder Hinsicht nötig ist, so sind doch einige Befunde und Besonderheiten namhaft zu machen, welche gerade die Farnpflanzen auszeichnen.

Zunächst das häufige und reichliche Vorkommen von Tonerde in der Asche, welches vor allem den Lycopodiaceen eigen ist.

Nach CHURCH(1) fehlt Aluminiumgehalt bei den Selaginella-Arten. Reichlich wird Al_2O_3 in der Asche erdbewohnender Lycopodiumformen gefunden: Lycopod. alpinum 33,5%, clavatum 15,24%, Selago 7,29%, cernuum 10,09% der Reinasche an Tonerde. Von den epiphytischen Arten enthält Lyc. Billardieri kein Al_2O_3, Lyc. Phlegmaria 0,45%. Hinsichtlich Phylloglossum, Tmesipteris und Isoëtes fehlen Angaben; Psilotum triquetrum und Marsilea enthalten Spuren, Salvinia natans 1,86%. Von echten Farnen wies eine von CHURCH untersuchte neuseeländische Cyatheacee den höchsten Al-Gehalt mit 19,65% auf; eine Reihe anderer Farne enthielt eine kleine Menge Tonerde. LANGER (2) wies in den Sporen von Lycopodium clavatum reichlich Aluminium: 15,3% der Asche, nach. Bei Equiseten und Ophioglosseen wird Al_2O_3 vermißt. COUNCLER (3) fand bei Lycopod. annotinum 18,1% Tonerde; der höchste Wert mit 39,07% ergab sich CHURCH bei Lyc. chamaecyparissus.

Analysen von Lycopodium annotinum und Ophioglossum vulgatum durch COUNCLER ergaben ferner Mn-Gehalt dieser Pflanzen:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Mn_3O_4	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2
Lycopod. annotin.	37,29	1,49	8,54	6,35	4,00	1,35	6,52	12,56	3,52
Ophioglossum . .	64,10	3,53	14,65	4,60	0,47	0,19	3,44	5,44	3,58

Die Pteridophyten sind häufig durch Kieselsäureeinlagerungen in die Zellmembranen ausgezeichnet. Besonders auffällig und schon von den älteren Phytochemikern (4) hervorgehoben, ist der Kieselsäurereichtum der Equisetaceen. Der Aschengehalt wird nicht besonders hoch gefunden: bei Equisetum arvense in den fertilen Sprossen mit 12,55%, in den sterilen Sprossen mit 12,12% [STORER und LEWIS (5)]. Bei Equisetum maximum fand CHURCH 63% Kieselsäure in der Asche, doch scheinen nach Analysen von MARIANI (6) zwischen den einzelnen Arten von Equisetum weitgehende Differenzen im Kieselsäuregehalte zu bestehen; bei E. Telmateja wurden 31,083%, bei arvense 6,188% SiO_2 gefunden. Von sonstigen Kieselsäurezahlen ergaben sich folgende Werte [CHURCH, l. c., für Pteridium HORNBERGER (7)]:

Lycopodium alpinum. . .	10,24%	Lycopodium cernuum . .	30,25%
Lycopodium clavatum . .	6,40%	Lycopodium Billardieri . .	3,14%
Lycopodium Selago . . .	2,53%	Ophioglossum vulgatum .	5,32%
Selaginella spinulosa . . .	6,67%	Salvinia natans	6,71%
Psilotum triquetrum . . .	3,77%	Marsilea quadrifoliata . .	0,88%
Cyathea serra	12,65%	Pteridium aquilinum . . .	49,85%

Eine Aschenanalyse von Pteridium aquilinum, welches von einem Boden mit 0,01% CaO und 0,025% MgO stammte, geben ferner GILLOT und DURAFOUR (8):

1) A. H. CHURCH, Chem. News (1874), p. 137. Journ. of Botan. (1875), p. 169. — 2) A. LANGER, Arch. Pharm. (1889), p. 241, 289. — 3) COUNCLER, Botan. Zentr., *40*, 97 (1889). — 4) Vgl. BRACONNOT, Ann Chim. et Phys. (2), *39*, 1 (1828). STRUVE, Journ. prakt. Chem., *5*, 450 (1835). ROSE, Pogg. Ann., *76*, 359 (1849). STRUVE, Lieb. Ann., *97*, 349 (1856). — 5) F. STORER u. LEWIS, Zentr. Agr. Chem., *8*, 73 (1879). — 6) MARIANI, Just (1888), I, 58. — 7) HORNBERGER, Landw. Vers.stat., *32*, 371 (1886). — 8) X. GILLOT u. DURAFOUR, Bull. Soc. de Natur. de l'Ain (1904), p. 8, Just (1904), II, 1052.

68,8% SiO_2	2,4% SO_3
8,2% PO_4, Fe_2O_3, Al_2O_3	0,3% Cl
12,2% CaO	3,3% Alkali
4,7% MgO	

Über die verkieselten Zellmembranen und Kieselkörper bei echten Farnen (Marattiaceae) hat POIRAULT (1) Mitteilungen gemacht. Ferner sind die Angaben von HARVEY-GIBSON (2) überAblagerungen von SiO_2 in der Rinde des Selaginellastämmchens zu vergleichen.

Auch Eiseneinlagerungen sind bei Equisetum, den Analysen MARIANIS zufolge, welcher für die Asche von Equ. Telmateja 23,4%, von arvense 37,34% Eisengehalt angab, vorhanden. In Lycopodiumsporen fand LANGER gleichfalls hohen Eisengehalt: 18,41% der Asche. Im übrigen sind die Verhältnisse des Fe_2O_2-Gehaltes der Gefäßkryptogamen noch wenig verfolgt.

Abschnitt 2: Die Mineralstoffe im Stoffwechsel der Blütenpflanzen.

Zweiundfünfzigstes Kapitel: Der Mineralstoffwechsel von Samen.

§ 1.

Die Verhältnisse im reifen Samen.

Vom Samennährgewebe, dessen Funktion es ist, dem Embryo in dessen ersten Vegetationsstadien zu seinem Wachstum die nötigen Substanzen in vollständigster und passendster Art zur Verfügung zu stellen, dürfen wir voraussetzen, daß auch der Gehalt an Mineralstoffen und deren Mischung mit dieser Funktion in Beziehung steht. In der Tat treten hinsichtlich der Mineralstoffe der Samennährgewebe derartige Verhältnisse stark hervor, und interessante vergleichend biologische Momente, wie sie sich u. a. in der bemerkenswerten Verwandtschaft der Reserveeiweißstoffe von tierischem Dotter, der Milch und den Pflanzensamen äußern, sind in den Mengenverhältnissen der einzelnen Aschenstoffe: im Reichtum an Phosphorsäure, Kali, Magnesia im relativ geringen Kalkgehalt usw. unverkennbar vorhanden. Die Samen sind überdies während ihrer Reifezeit keine Zielpunkte eines starken Transpirationsstroms, wie die Laubblätter, und es sind deswegen Speicherungen von bestimmten im Boden reichlich vorhandenen Mineralstoffen, wie NaCl, $CaCO_3$ in Samen nur in sehr geringem Grade möglich. So tritt die Anpassung des quantitativen und qualitativen Mineralstoffgehaltes an die Bedürfnisse der embryonalen Wachstumzeit in der Regel ungetrübt zutage.

Da bei den allermeisten Aschenanalysen von Samen praktische Interessen im Vordergrunde standen, so ist das vorhandene Analysen-

---

1) POIRAULT, Ann. Sci. Nat. (7), *18*, 113 (1893). — 2) HARVEY-GIBSON. Ann. of Botan., *7*, 355 (1893).

material nicht in allen Punkten für physiologische Zwecke geeignet. Man hat meist die ganzen Samen, ganze Karyopsen und Schließfrüchte samt Tegumenten und Fruchtschalen zur Untersuchung gebracht, wodurch natürlich das Bild der Aschenstoffverhältnisse des Nährgewebes häufig schwer erkennbar wird. Gerade die Maximalzahlen, die für den Gesamtaschengehalt von Samen angegeben werden, sind durch derartige Umstände entwertet, man hat z. B. bei Lithospermum officinale bis 29,3%, bei Daucus Carota bis 8,51%, Rubia tinctorum 7,30% und bei Papaver infolge der subepidermalen Oxalatschicht bis 6,04% Gesamtasche erhalten usf.

Von derartigen Fällen abgesehen, stellt sich aber der Gesamtaschengehalt auch bei nicht entschälten Samen im Verhältnis zu anderen Organen recht niedrig. Die kleinsten Werte weist wohl die Karyopsis von Oryza sativa auf, welche im Mittel 0,39% Asche enthält, nach Wolff bei einer abessynischen Reissorte sogar nur 0,21%. In den meisten Fällen aber, auch bei geschälten Samen und isolierten Nährgeweben, bewegen sich die Zahlen für den Gesamtgehalt an Aschenstoffen zwischen 2 und 4% der Trockensubstanz.

Es wäre sehr erwünscht, die Aschenstoffquantitäten im Äther-, Alkohol- und Wasserextrakt der Samennährgewebe festzustellen, wodurch manche Einzelheiten bezüglich Bindungsart u. s. w. ersichtlich würden. Das Auslaugen von Mineralstoffen durch Wasser aus Samen von Triticum und Phaseolus studierte André (1). In 281 Tagen verlor Triticum 79,57% der PO_4 und 99,22% des K, Phaseolus 83,4% der PO_4 und 90,97 des K. Im Petrolätherextrakt von Hordeum fanden Schlagdenhauffen und Reeb (2) PO_4, Na, Ca, Fe, Mn, aber kein Mg. Bei Avena, Secale, Triticum wurde K statt Na nachgewiesen. Die ätherlösliche PO_4 ist auf Rechnung des Lecithins zu stellen.

Embryo und Nährgewebe sind hinsichtlich ihrer Aschenstoffe selten getrennt untersucht worden. In mehreren Fällen dürfte wohl der Gesamtaschengehalt des Embryo jenen des Nährgewebes übertreffen, ohne daß bekannt ist, woran dies liegt. Für den Embryo von Zea Mays fand Mosef (3) 4,36 und 5,49% Asche. Hopkins, Smith und East (4) konstatierten im Maiskeim 9,9—10,48% Aschenstoffe, im Stärkeendosperm aber nur 0,18—0,6% Asche, in der Kleberschicht 0,92—1,74% Asche. Für den Weizenembryo gab Frankfurt (5) 4,82% Aschengehalt an, und Zahlen von Siebel (6) wurden für den Blattkeim der Gerste zu 2,19% für den Wurzelkeim zu 3,31 und 2,84% bestimmt.

Zur Illustration der Verteilung der Gesamtasche in Samennährgeweben auf die einzelnen Bestandteile seien nachstehende Analysen angeführt.

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl	MnO_2
1. Avena sativa . . .	27,96	—	7,46	10,12	1,54	47,73	—	—	—	
2. Fagopyrum esculent	23,07	6,12	4,42	12,42	1,74	48,67	—	—	—	
3. Pisum sativum . .	43,10	0,98	4,81	7,99	0,83	35,90	—	—	—	
4. Linum usitatiss. .	30,63	2,07	8,10	14,29	1,12	41,50	—	—	—	
5. Cannabis sativa . .	20,28	0,78	23,64	5,70	1,00	36,40	—	—	—	
6. Cocos nucifera . .	43,88	8,39	4,63	9,44	—	16,99	—	—	—	
7. Juglans regia . .	31,11	2,25	8,59	13,03	1,32	43,70	—	—	—	
8. Panicum miliaceum	18,23	—	1,64	14,20	0,53	40,21	1,82	—	—	
9. Coix agrestis . . .	22,04	—	2,63	13,33	4,46	36,82	4,47	—	—	

1) G. André, Compt. rend., *154*, 1103 (1912). — 2) Schlagdenhauffen u. Reeb, Ebenda, *139*, 980 (1904). — 3) J. Moser, Jahresber. Agr. Chem. (1878), p. 750. — 4) Hopkins, Smith u. East, Journ. Amer. Chem. Soc., *25*, 1166 (1903). — 5) S. Frankfurt, Landw. Vers.stat., *47*, 449 (1896). — 6) E. Siebel, Just (1890), I, 44.

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl	Mn_2O_3
10. Torreya nucifera .	52,44	—	3,07	11,29	0,56	19,51	0,69	—	—	
11. Camellia japonica .	42,63	—	5,01	7,60	9,24	24,74	6,67	—	—	
12. Arachis hypogaea .	47,72	—	4,00	14,47	1,21	27,64	0,13	—	—	
13. Pinus Cembra . .	24,16	9,35	17,40	5,13	0,682	32,11	0,98	0,31	—	
14. Phytelephas macroc.	23,19	0,09	8,43	3,11	8,50	14,30	2,46	—	8,34	
15. Phoenix dactylifer.	13,75	9,03	11,85	14,99	2,85	26,35	5,81	1,27	—	
16. Piper nigrum . .	7,15	0,84	31,06	11,64	1,86	30,75	3,76	1,46	0,9	
17. Sinapis alba . . .	24,98	0,21	15,79	9,58	1,38	28,48	8,28	1,17	0,12	
18. Brassica nigra . .	23,59	0,38	14,95	11,06	1,16	40,99	6,12	1,55	0,16	
19. Beta vulgaris . .	32,93	4,97	13,44	3,91	3,86	—	—	—	4,19	
20. Glycine hispida .	45,02	·	8,92	8,19	—	29,13	1,37	—	0,75	
21. Cola acuminata . .	54,96	·	·	8,54	1,38	14,62	8,50	1,07	1,30	
22. Aesculus Hippocast.	61,05	·	4,77	5,85	·	25,50	1,93	0,19	0,71	
23. Bassia longifolia .	56,68	·	0,64	·	2,01	15,47	6,81	·	·	
24. Beta vulgaris geschält	1,90	·	0,23	·	·	2,70	·	·		
25. Ricinus commun. geschält, entfettet			3,90	20,7		48,2		0,5		0,0076
26. „ ölhaltig			4,0	19,8		31,9				
27. Aleurites triloba .	0,75	·	0,17	0,60	·	1,59	·	·	·	0,03
28. Trigonella coerulea	33,71	5,304	8,374	7,123	2,2041	14,194	7,087	4,759	5,81	Spur
29. Cicer arietinum . .	28,38	4,12	10,19	20,06	2,2	34,51	3,64	0,68	1,96	—
30. Maclura pomifera .	3,82	0,13	0,16	0,20		0,67	(von 6,6 % Rohasche)			
31. Theobroma cacao Radicula d. Embr.	wasserlösl. Aschenstoffe			6,26	·	1,36		·		·

Analysen 1—7 sind den Zusammenstellungen von WOLFF entnommen, 8—12 stammen von KELLNER (**1**), 13 von LEHMANN (**2**), 14 von HOLDEFLEISS (**3**), 15 von GEORGES (**4**), 16 von RÖTTGER (**5**), 17 und 18 von PIESSE und STANSELL (**6**), 19 von IHLÉE (**7**), 20 von PELLET (**8**), 21 von CHODAT und CHUIT (**9**), 22 von HANAMANN (**10**), 23 von VALENTA (**11**), 24 von STROHMER und FALLADA (**12**), 25 von HAMLIN (**13**) 26 von E. SCHULZE und GODET (**14**), 27 von THOMPSON (**15**) 28 von WUNSCHENDORFF (**16**), 29 von HÄUSSLER (**17**), 30 von ZLATAROFF (**18**), 31 von MC HARGUE (**19**).

Daß das Bild der Zusammensetzung der Samennährgewebsasche tatsächlich mit der Zusammensetzung der Asche embryonaler und junger Gewebe übereinstimmt, zeigt der Vergleich mit nachstehenden Analysenergebnissen:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
Weizenkeimlinge: Radicula .	43,23	12,27	0,75	4,05	0,43	29,12	0,29	8,75	0,99
„ Plumula .	48,38	·	0,58	5,93	0,38	41,01	·	2,35	0,15
Brassicakeimlinge: Plumula .	15,44	·	9,24	11,54	1,30	38,67	23,81	·	·
„ Radicula .	36,80	·	6,13	8,13	6,13	26,53	16,27	·	·

---

1) O. KELLNER, Jahresber. Agr. Chem. (1886), p. 65. — **2**) E. LEHMANN, Just (1890), I, 90. — **3**) F. HOLDEFLEISS, Zentr. Agr. Chem. (1880), p. 234. — **4**) GEORGES, Journ. Pharm. Chim. (5), *3*, 632 (1881). — **5**) H. RÖTTGER, Arch. Hyg. (1886), p. 183. — **6**) C. H. PIESSE u. L. STANSELL, Pharm. Journ. (3), *11*, 416 (1880). — **7**) IHLÉE, Dingl. polytechn. Journ., *234*, 494 (1879). — **8**) H. PELLET, Compt. rend., *90*, 1177 (1880). — **9**) CHODAT u. PH. CHUIT, Arch. Sci. phys. et nat. Genève (1888), p. 497. — **10**) HANAMANN, Just (1885), I, 75. — **11**) E. VALENTA, Dingl. Pol. Journ., *251*, 461 (1884). — **12**) STROHMER u. FALLADA, Chem. Zentr. (1906), I, 1440. — **13**) M. L. HAMLIN, Biochem. Bull., *2*, 410 (1913). — **14**) E. SCHULZE u. GODET, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 156 (1908). — **15**) A. R. THOMPSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 644 (1913). — **16**) WUNSCHENDORFF, Journ. Pharm. et Chim. (7), *9*, 345 (1914). — **17**) E. P. HÄUSSLER, Arch. Pharm., *252*, 82 (1914). — **18**) A. ZLATAROW, Ztsch. Unt. Nahr., *31*, 180 (1916). — **19**) MC HARGUE, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 612 (1915).

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
Trifolium pratense, ganz jung	30,06	2,27	28,13	9,28	1,69	12,13	2,21	.	.
Blumenkohl	44,36	5,89	5,58	3,66	1,02	20,22	13,01	.	.
Cynara Scolymus	24,04	7,41	9,56	4,14	2,51	38,46	5,18	.	.
Asparagussprosse	24,04	17,08	10.85	4,32	3,38	18,57	6,18	.	.
Kuhmilch	24,08	6,05	23,17	2,63	0,44	27,98	1,26	.	.
Neugeborenes Säugetier . .	9,81	7,48	34,98	1,77	0,27	40,67	.	.	.

Schichowsky (1) verglich beim Mais die Aschenstoffe von Hülle, Endosperm und Embryo und erhielt folgende Zahlen:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl	Gesamtasche
Hülle . . .	30,08	1,95	2,3	10,5	2,34	23,3	23,5	5,5	.	0,29
Endosperm	37,31	.	0,06	8,5	1,41	36,4	14,4	1,4	.	0,78
Embryo .	23,57	.	7,9	6,6	0,54	41,8	19,4	0,2	.	2,22

Hinsichtlich des Kaligehaltes der Samen ist zu sagen, daß derselbe meist 20—50% der Gesamtasche beträgt, manchmal auch 60% der Gesamtasche überschreitet, und nur selten bis unter 12% der Asche des Nährgewebes herabgeht. Beziehungen zwischen der Art der im Nährgewebe aufgestapelten organischen Reservestoffe (Fett, Stärke, Reservecellulose, Eiweißstoffe) und der Quantität des vorhandenen Kali ergeben sich anscheinend nicht. Nach einigen bei Wolff angeführten Daten scheint es möglich zu sein, durch reichliche Kalidüngung den Kaligehalt der Samen um ein Geringes zu steigern (l. c. p. 10 und 52); so enthielten mit Holzasche gedüngte Sommerweizenpflanzen in den Samen 36,29% K_2O (ungedüngt: 32,71%), desgleichen steigerte Holzaschedüngung bei Vicia Faba den Kaligehalt der Samen von 45,52 auf 46,76% der Reinasche.

Der Natrongehalt der Samen ist in der Regel klein, sehr oft weniger als 1% oder zwischen 1 und 2% der Reinasche. Einige Analysenbeispiele von höherem Natrongehalt betreffen Zuckerhirse (8,35%), Buchweizen (6,12%), Futterwicke (7,86%), Futterrunkelrübe (17,38%), Zuckerrübe (9,19%), Cichorium Intybus (8,40%), Gossypium (8,75%), Cocos (8,39%), Fagus silvatica (9,94%) u. a. Höherer Chlorgehalt ging nicht in allen diesen Fällen dem Natrongehalt parallel. Von typischen Halophyten ist der NaCl-Gehalt des Samennährgewebes wohl noch nicht ausreichend festgestellt worden.

Kalk ist im Gegensatz zum Kali im Samennährgewebe ein nicht unerheblichen Schwankungen ausgesetzter Aschenbestandteil. Die vielen Analysen, welche sich auf die ganzen nicht entschälten Samen beziehen, geben infolge des häufig sehr hohen Kalkgehaltes der Tegumente in der Regel kein richtiges Bild vom Kalkgehalte des Nährgewebes. Noch mehr gilt dies in jenen Fällen, wo Fruchtschalen mitanalysiert wurden. So erhielt Hornberger (2) für die ganzen Früchtchen von Lithospermum officinale 59,01% der Reinasche an CaO; hier brausen die Fruchthüllen infolge ihres hohen Gehaltes an $CaCO_3$ bei Benetzen mit Säure stark auf. Infolge ähnlicher Sachlage ergaben sich hohe CaO-Zahlen für Onobrychis (31,58%), Daucus (38,84%), Papaver (35,36%), Alnus (30,22%) u. a. Der in rein isoliertem Samennährgewebe vorkommenden Kalkmenge dürfte ein Gehalt der Reinasche an CaO von 2—10% in den meisten Fällen entsprechen. Ob ein kalkreiches Substrat auf den Kalk-

1) J. Schichowsky, Arbeit. St. Petersb. Naturf. Ges., *14*, 1 (1883). — 2) R. Hornberger, Lieb. Ann., *176*, 85 (1875).

gehalt des Samennährgewebes Einfluß nimmt, vermag ich aus den vorliegenden Untersuchungsdaten nicht zu ersehen.

Dem Werke von WOLFF sei eine Tabelle bezüglich der quantitativen Schwankungen von Kali und Kalk in Prozenten der Gesamtreinasche entnommen, welcher ich die Größe der Schwankung, ausgedrückt in Prozenten der Maximalzahlen, beifüge.

	K_2O	CaO	Schwankung. von K_2O	Schwankung. von CaO
Triticum vulgare . . .	41,1—23,2	8,2— 0,9	43,5	89,0
Secale cereale	37,5—27,8	6,3— 1,3	25,8	79,4
Hordeum vulgare . . .	32,2—11,4	5,6— 1,2	64,6	78,6
Avena sativa	26,2—12,6	8,4— 1,3	51,9	84,5
Zea Mays.	38,1—24,3	3,8— 0,6	36,2	84,2
Pisum sativum	51,8—35,8	7,9— 1,8	30,8	77,2
Phaseolus vulgaris . .	51,9—37,3	13,4— 1,2	28,1	91,0
Vicia Faba	47,4—32,6	8,9— 2,9	31,2	67,1
Lupinus luteus	33,7—27,5	9,9— 6,4	18,4	35,3
Trifolium pratense . .	38,5—31,4	7,9— 4,9	18,4	38,0
Brassica Rapa	29,5—21,3	17,3—10,4	27,8	40,0
Linum usitatissimum .	36,0—27,1	9,5— 6,6	24,7	30,5
Gossypium herbaceum .	36,8—27,0	10,9— 3,0	26,6	72,5

Allerdings wäre eine nähere Feststellung dieser Verhältnisse noch an isolierten Nährgeweben und Embryonen erwünscht.

Daß eine kalkreiche Düngung den Kalkgehalt der Samennährgewebe erhöhen kann, ist einer Reihe von Analysen zu entnehmen, die bei WOLFF zusammengestellt sind. So enthielten 100 Teile Reinasche bei Winterweizen, ungedüngt 3,0 % CaO, Kalksuperphosphatdüngung 3,18 %, Knochenaschedüngung 4,04 %, Winterroggen, ungedüngt 2,02—3,81 %, Ätzkalkdüngung 2,19 %, phosphorsaurer Kalk 5,51 %, Hafer, ungedüngt 2,87 %, Ätzkalk 4,62 %, Kalkphosphat 5,48 %, Lupine, ungedüngt 6,40 %, Ätzkalk 6,63 %, Kalkphosphat 6,69 %; Faba, ungedüngt 2,90 %, Kalkkarbonat 3,03 %. Natürlich wird hierbei die Art der Gesamtmischung des Mineraldüngers, nicht der Kalkgehalt desselben allein eine Rolle spielen. Im allgemeinen scheint jedoch die Düngung keinen wesentlichen Einfluß auf die Mineralstoffe des Samens zu haben, wie sich aus den Erfahrungen von SOAVE (1) für Zea Mays und von LE CLERC und YODER (2) für Triticum ergibt. Beim Weizen resultieren nur Schwankungen von 1,9 bis 2,3 % aus dem Bodenfaktor, während der klimatische Faktor großen Einfluß hat. Beziehungen zur Art der gespeicherten organischen Reservemateralien des Nährgewebes treten auch beim Kalk nicht hervor.

Der **Magnesiagehalt** des Nährgewebes scheint hingegen derartige Beziehungen aufzuweisen, indem die reichlich Fett führenden Samennährgewebe durchschnittlich mehr Magnesia zu enthalten pflegen, als Stärke oder Reservecellulose speichernde Nährgewebe. Einige Anhaltspunkte mag folgende Zusammenstellung liefern:

---

1) M. SOAVE u. C. MILIARDI, Staz. Sper. Agr. Ital., *60*, 211 (1907). — 2) J. A. LE CLERC u. P. A. YODER, Journ. Agr. Research Dept. Agr. Wash., *1*, 275 (1914).

Stärkespeichernd	Proz.	Fettspeichernd	Proz.	Reservecellulose führend	Proz.
Getreidearten	11,0	Brassica Rapa .	11,80	Coffea arabica	9,69 MgO
Zea Mays .	15,52	Brassica Napus .	13,43	Phytelephas .	3,11 MgO
Fagopyrum .	12,42	Papaver	9,49		
Pisum . . .	7,99	Linum	14,29		
Phaseolus . .	7,62	Gossypium . . .	16,63		
Aesculus . .	0,50	Cannabis	5,70		
Castanea . .	7,47	Theobroma . . .	11,06		
Quercus . .	5,29	Cocos	9,44		
		Aleurites	15,13		
		Juglans	13,03		
		Abies pectinata .	16,77		
		Amygdalus . . .	17,66		
Durchschnitt	8,47		12,87		6.4 MgO

Im Samen der Getreidearten ist nach WILLSTÄTTER (**1**) immer mehr Mg als Ca zugegen. Die Verhältnisse im geschälten Samen und in der Samenschale berücksichtigen die Untersuchungen von SCHULZE und GODET (**2**) hinsichtlich des Kalkes, der Magnesia, K_2O und Phosphorsäure, wie die nachstehenden Zahlen veranschaulichen sollen.

Geschälte Samen von:	in Proz. der Asche				in Proz. der Trock.subst.	Samenschale in Proz. der Asche			
	K_2O	CaO	MgO	P_2O_5	Asche	K_2O	CaO	MgO	P_2O_5
Pinus Cembra . .	29,4	6,7	9,9	42,8	2,9	44,9	12,6	11,0	3,2
Lupinus angustifol.	31,4	5,0	10,6	40,5	3,78	27,5	38,7	9,4	6,1
Cucurbita Pepo . .	18,8	1,1	19,0	55,8	3,67	35,0	8,5	7,6	6,4
Ricinus communis	·	4,0	19,8	31,9	3,64	23,7	43,9	4,3	0,6
Helianthus annuus	·	5,0	17,9	·	3,66	·	·	·	·
Corylus Avellana .	·	9,6	15,5	·	3,09	·	·	·	·
Amygdalus comm.	·	12,8	13,4	·	2,86	·	·	·	·
Juglans regia . .	·	3,0	11,5	·	2,40	·	·	·	·

Man darf angesichts dieser Tatsachen wohl daran denken, daß bei Fettnährgewebe Mg-Salze von Phytinsäure, vielleicht auch von Phytovitellinen in den Aleuronkörnern vorkommen (**3**).

Die Samennährgewebe gehören zu den Mg-reichsten Pflanzenorganen und übertreffen an Magnesiumgehalt in der Regel die assimilierenden grünen Teile. Meist findet man 10—15 % MgO in der Reinasche, auch 15—17 % MgO ist nicht selten, 21,03 % MgO in der Asche von Hyoscyamussamen ist jedoch schon eine abnorm hohe Zahl. Von den in der Literatur angeführten niederen Zahlen für MgO in Samen sind die meisten dadurch bedingt, daß Tegumente und Fruchtschalen mitanalysiert wurden. Auffallend niedrig ist der MgO-Gehalt des Roßkastaniensamens mit 0,5 % angegeben. Die Schwankungen im Magnesiagehalt sind nicht eben hohe. Daten hierüber finden sich bei WOLFF l. c. angeführt und beziehen sich auf dieselben Pflanzen wie oben. Sie sind in der Tabelle auf S. 379 bei den Schwankungen des Eisengehaltes vergleichsweise mitangeführt.

---

1) R. WILLSTÄTTER, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 438 (1909). — **2**) E. SCHULZE u. CH. GODET, Ebenda, p. 156 (1908). — **3**) Hierzu S. POSTERNAK, Compt. rend., *140*, 323 (1905).

Der Eisengehalt der Samennährgewebe ist meist ganz gering und überdies sehr bedeutenden Schwankungen ausgesetzt, häufig bis unter 0,1 % der Reinasche sinkend und dann innerhalb die Fehlergrenzen der analytischen Bestimmungsmethoden fallend. Im allgemeinen ist dies bei Assimilations- und Achsenorganen nicht der Fall, woselbst auch der Eisengehalt durchschnittlich ein höherer ist. Wie die nachfolgenden Zahlen zeigen, kann ein Fe_2O_3-Gehalt der Samenasche von 2 % zu den hohen Werten gerechnet werden.

	Proz.			Proz.			Proz.	
Triticum	1,28	Fe_2O_3	Onobrychis	1,59	Fe_2O_3	Rubia	1,87	Fe_2O_3
Secale	1,24	,,	Ornithopus	0,52	,,	Vitis	0,37	,,
Hordeum	1,19	,,	Beta	0,46	,,	Coffea	0,65	,,
Avena	1,54	,,	,,	0,37	,,	Theobroma	0,03	,,
Zea	0,76	,,	Daucus	0,99	,,	Cocos	Spur	,,
Panicum	1,08	,,	Cichorium	0,88	,,	Aleurites	Spur	,,
Sorghum	1,87	,,	Brassica	1,97	,,	Juglans	1,32	,,
Fagopyrum	1,74	,,	,,	1,56	,,	Aesculus	Spur	,,
Pisum	0,83	,,	,,	0,48	,,	Castanea	0,14	,,
Faba	0,46	,,	Sinapis	0,99	.	Quercus	1,01	,,
Phaseolus	0,32	,,	Papaver	0,43	..	Alnus	2,91	,,
Soja	Spur	,,	Linum	1,12	,,	Fagus	2,66	,,
Lupinus	0,71	,,	Gossypium	1,95	,,	Pinus	3,01	,,
Vicia	1,27	,,	Cannabis	1,00	,,	Abies	1,31	,,
Lathyrus	0,49	,,	Carum	3,57	,,	Amygdalus	0,55	,,
Trifolium			Coriandrum	1,18	,,	Litho-		,,
prat.	1,70	,,	Foeniculum	2,12	,,	spermum	0,28	,,
,, rep.	1,90	,,	Anethum	1,96	,,	Hyoscyamus	2,02	,,

Das Mitanalysieren von Samenschalen und Fruchthüllen bedingt, wie das Beispiel von Lithospermum u. a. zeigt, nicht immer ein Ansteigen des Eisengehaltes. Doch ist für mehrere Fälle ein Eisengehalt der Samenschalen speziell nachgewiesen, von JOHNSTONE (1) für Brassica Napus, von PATEIN (2) für Abrus precatorius u. a. m. Der hohe Gehalt alter Fruchthüllen von Trapa natans [nach THOMS (3) 67,82 % Fe_2O_3] wird durch Eisenspeicherung der stark gerbsäurehaltigen Schalengewebe aus dem Wasser erklärt; frische, Fruchtschalen enthalten nur 1,34 % und frische Samen nur 1,32 % Fe_2O_3 also kaum mehr als viele andere Pflanzensamen. Ob die Angabe von GASPARIN (4), daß beim Weizenkorn der Eisengehalt bis 20 % der Reinasche ansteigen kann, durch Tatsachen begründet ist, müßte erst bestätigt werden. Zur Illustration der Schwankungen im Eisengehalte von Nährgeweben möge nachstehende Zahlentabelle nach WOLFF dienen. Derselben ist leicht zu entnehmen, daß die Schwankungen ganz bedeutend sind. Deswegen erscheint es auch kaum wahrscheinlich, daß in jenen Fällen, in denen 1 % und mehr Fe_2O_3 in der Asche konstatiert wurde, der gesamten Eisenmenge eine wichtige Rolle in der stofflichen Zusammensetzung des Nährgewebskörpers zukommt. Über Bindungsart und Bedeutung des Eisens in Samennährgeweben ist wenig bekannt.

---

1) JOHNSTONE, Nature, *39*, 15 (1889). — 2) PATEIN, Journ. Pharm. et Chim (5), *9*, 468 (1884). — 3) G. THOMS, Landw. Vers.stat. (1898), Nr. 9; P. NEUMANN, Chem.-Ztg. (1899), p. 22. — 4) GASPARIN, Just (1876), II, 889.

	Fe_2O_3 Proz.	MgO Proz.	Schwankungen von Fe_2O_3 Proz.	MgO Proz.	P_2O_5 Proz.
Winterweizen . .	3,0—0,1	9,1—16,3	98,92	44,17	27,0
Sommerweizen .	0,6—0,3	10,4—13,6	—	—	—
Winterroggen . .	3,4—0,2	9,4—15,4	94,11	38,96	21,76
Sommergerste . .	4,7—0,0	5,0—12,7	100,0	60,63	43,47
Hafer	9,1—0,0	4,5—10,8	100,0	58,33	55,55
Mais	2,0—0,0	12,1—18,1	100,0	33,15	29,98
Erbse	3,8—0,0	3,7—13,0	100,0	71,53	40,99
Ackerbohne . . .	1,1—0,0	5,3— 9,9	100,0	46,46	39,56
Lupine	2,1—0,0	8,5—17,3	100,0	50,86	22,34
Rotklee	2,5—0,7	12,1—13,5	72,0	10,37	25,11
Kohlraps	3,3—0,6	6,6—15,6	81,81	57,69	25,05
Lein	2,0—0,4	10,0—18,1	80,0	44,75	19,46
Baumwolle . . .	2,7—0,0	10,6—20,0	100,0	47,00	28,49

Der hohe Gehalt an Phosphorsäure ist für die Asche von Samennährgeweben ebenso charakteristisch wie der hohe Kaligehalt. Gar nicht selten beträgt die Hälfte der Gesamtreinasche Phosphorsäure, und auf 25% geht der P_2O_5-Gehalt der Samenasche selten hinunter. Dort, wo phosphorsäurearme Samentegumente oder Fruchthüllen mitanalysiert wurden, sind natürlich die Zahlen entsprechend niedriger; so aufzufassen sind die Analysenergebnisse für Beta (15,5—16,6% P_2O_5), Daucus (15,76%), Rubia (8,23%), Lithospermum (2,17%) u. a. Die Schwankungen im Phosphorsäuregehalt bei einer bestimmten Samenart sind relativ nicht bedeutend, wie aus der obenstehenden Tabelle zu ersehen ist. Die Samennährgewebe enthalten demnach ebensoviel Gesamtphosphorsäure wie embryonale Gewebe, und übertreffen alle ausgewachsenen Pflanzenorgane an P_2O_5-Gehalt. Die Art der gespeicherten organischen Reservematerialien: Fett, Stärke, spielt anscheinend bezüglich der Quantität der Gesamt-P_2O_5 keine Rolle, und der Phosphorsäuregehalt von Stärke- und Fettnährgeweben ist gleich hoch. Auch mit dem Eiweißgehalte ergibt sich keine quantitative Beziehung des Gehaltes an Phosphorsäure; die proteinarmen Gramineenendosperme enthalten ungefähr ebensoviel Gesamt-PO_4 wie die eiweißreichen Samennährgewebe von Lupinus, Phaseolus, Gossypium und Amygdalus. Doch meint PARROZZANI (1) für Mais eine Konstanz des Verhältnisses zwischen dem Stickstoffgehalt und dem Gehalt an organischem Phosphor annehmen zu müssen.

Mittels Magnesiamischung kann man in allen Nährgeweben sehr geringe Mengen von Phosphorsäure (PO_4'-Ionen) nachweisen (2). SCHULZE und CASTORO (3) vermochten citratlösliche PO_4 mit Magnesiamixtur bei einer Reihe von Samennährgeweben gar nicht auszufällen, bei Cembra-Samen in sehr unbedeutender Menge. Auch die Reiskleie ergibt nach BOORSMA (4) erhebliche Mengen von organisch gebundener Phosphorsäure, welche beim Erhitzen ausfällt und sich beim Erkalten oder beim Zusatz von Essigsäure wieder löst. Nach ULRICH (5) enthalten Weizenkleie und

1) A. PARROZZANI, Staz. Sper. Agr. Ital., *42*, 890; Rend. Soc. Chim. Ital. (2), *1*, Heft 14 (1909); Ann. Staz. Sper. Agr. Roma, *3*, 83 (1910). — 2) SCHIMPER, Flora (1890), p. 207; L. IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 361 (1901). — 3) E. SCHULZE u. N. CASTORO, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 479 (1904). — 4) P. A. BOORSMA, Van Bemmelen-Festschrift (1910), p. 210. — 5) H. ULRICH, Arch. exp. Pathol., *68*, 171 (1912); Phosphate des Weizenkorns: BARBIERI, Compt. rend., *159*, 431. Datura: KUNZ-KRAUSE, Arch. Pharm., *254*, 510 (1916).

Hafer 0,034—0,039, bzw. 0,032—0,039 % alkohollöslichen Phosphor und 1,043 bzw. 1,028 % wasserlöslichen Phosphor. Vom organisch gebundenen Phosphor sind die wichtigsten Formen: Glycerophosphorsäure, wichtig als Baustein der Phosphatide (in Äther lösliche PO_4); Nucleinphosphorsäure, welche man durch die PO_4-Bestimmung im unverdaulichen Eiweißanteil des Nährgewebes beurteilen kann; Phytin. Hinsichtlich des von CAVAZZANI (1) angegebenen Nucleons sind noch weitere Untersuchungen nötig. Nach LEWONIEWSKA (2) schwankt der Lecithin-P nur wenig, hingegen die anorganische PO_4 und Phytin-PO_4 stark, bis zum dreifachen Betrage des Minimums, je nach der Ernährung. HALASZ (3) fand bei Pisum in der Regel ein strenges Verhältnis der Gesamt-PO_4 zur Lecithin-PO_4 (Quotient 6—7).

Das Phytin oder Inositphosphorsäure, dessen Chemie an anderer Stelle abgehandelt wird (4), ist nach CONTARDI (5) durch Extraktion mit 0,2—0,3 % HCl aus Reishüllen in einer Ausbeute von 5 % des Rohmaterials zu gewinnen. Reiskleie mit Wasser angerührt spaltet infolge der Gegenwart von Phytase aus Phytin anorganische Phosphorsäure ab. SUZUKI und YOSHIMURA (6) haben das Phytin spaltende Enzym isoliert. Reiskleie enthält nach diesen Autoren 8 % Phytin oder 85 % des Gesamt-P als Phytin-P; Weizenkleie liefert 2 % Phytin, bei Ricinus, Brassica, Hordeum, Panicum ist 41—45 % des Gesamt-P Phytin-P, bei Sesamum 16 %, Apfel und Birne 46—48 %. Mit dem Phytin aus Weizenkleie haben sich noch MENDEL und UNDERHILL, ANDERSON und ROBINSON befaßt (7). Im Tierkörper wird aus Nahrungs-Phytin anorganische PO_4 abgespalten und vermehrt ausgeschieden (8).

Phosphorreiche Düngung vermag wohl den Phosphorsäuregehalt des Samennährgewebes etwas zu vermehren, jedoch sind die Differenzen in den bei WOLFF zusammengestellten Analysen ohne und mit starker Phosphorsäurezufuhr nur gering.

Die Verhältnisse des Schwefelgehaltes der Samennährgewebe sind noch mangelhaft bekannt, und selbst die gewöhnlich benützte Methode der Bestimmung des Gesamtschwefels als Schwefelsäure in der Reinasche ist in vielen Fällen von größeren Verlusten nicht frei. Meist wurde 1—1,5 % Schwefeltrioxyd für die Reinasche angegeben, doch sind die Schwankungen, wie die Zusammenstellungen bei WOLFF zeigen, sehr beträchtlich, und daß, wie dort ausgeführt ist, der Schwefelgehalt der Samenasche öfters bis Null sinkt, ist eine Tatsache, welche die Mangelhaftigkeit der Methoden illustriert. Bei Cruciferensamen ist der Schwefelgehalt infolge des Gehaltes an Senfölglucosiden ein höherer: bis 7,16 %; hier handelt es sich um reichliche Anwesenheit von gepaarter Schwefelsäure. In anderen Fällen sind es Rhodanate und andere Schwefelverbindungen, welche den S-Gehalt des Nährgewebes erhöhen. Der größte Teil des in Nährgeweben vorgefundenen Schwefels

---

1) E. CAVAZZANI, Zentr. Physiol., *18*, 666, 675 (1904); CAVAZZANI u. MANICARDI, Biochem. Zentr., *3*, Ref. Nr. 1500 (1905). — 2) S. LEWONIEWSKA, Anzeig. Akad. Krakau (1911), B 85. — 3) HALASZ, Biochem. Ztsch., *87*, 104 (1918). — 4) A. R. ROSE, Biochem. Bull., *2*, 21 (1912); C. NEUBERG, Biochem. Ztsch., *9*, 557 (1908); *16*, 406 (1909); E. WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *58*, 118 (1908); P. A. LEVENE, Biochem. Ztsch., *16*, 399 (1909). — 5) A. CONTARDI, Atti Acc. Linc. (5), *18*, I, 64 (1909). — 6) U. SUZUKI, YOSHIMURA u. TAKAISHI, Bull. Coll. Agr. Morioka Japan, *1*, Nr. 2 (1906). — 7) L. B. MENDEL u. F. P. UNDERHILL, Amer. Journ. Physiol., *17*, 75 (1906); R. J. ANDERSON, Journ. Biol. Chem., *12*, 447 (1912); *34*, 509 (1918). ROBINSON u. MUELLER, Biochem. Bull., *4*, 100 (1915); RATHER, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 523 (1918). — 8) O. HORNER, Biochem. Ztsch., *2*, 428 (1907).

dürfte wohl den Eiweißsubstanzen angehören, womit die Erfahrung übereinstimmt, daß proteinarme Samen weniger Schwefel als proteinreiche Nährgewebe zu enthalten pflegen. So ist nach den bei WOLFF angeführten Aschenanalysen der Schwefelgehalt (als SO_3 berechnet) bei:

a) proteinarm		b) proteinreich	
Winterweizen	0,39 %	Pisum	3,42 %
Sommerweizen	1,32 %	Faba	3,39 %
Winterroggen	1,28 %	Lupinus	8,57 %
Sommergerste	1,80 %	Linum	2,34 %
Hafer	1,78 %	Gossypium	2,16 %
Mais	0,78 %	Vitis	3,48 %
Buchweizen	2,11 %	Helianthus	2,34 %
Aesculus	1,42 %	Cocos	5,09 %

Doch erleidet diese Regel zahlreiche Ausnahmen: Amygdalus, trotz Proteinreichtum 0,37 % SO_3, Papaver 1,92 % usw. Ob dies auf Nichtabtrennung der Samenhüllen, Embryonen usw. beruht, oder auf methodischen Mängeln, läßt sich nicht sagen. Es ließen sich übrigens, wie GOLA (1) für verschiedene embryonale Gewebe gezeigt hat, auch mikrochemische Reaktionen zur Untersuchung schwefelhaltiger Verbindungen in Nährgeweben verwenden. Von derartigen Reaktionen kommen in Betracht die Nitroprussidnatrium-KOH-Probe, Erwärmen mit alkalischer Bleilösung, eventuell auch die Reaktionen mit $CuSO_4$ und KOH (SUTER) und die Eisenchloridprobe (BAUMANNs Reaktion auf cysteinartige Schwefelverbindungen.)

Nach PECKOLT (2) sind 22,46 % der Asche der Samen von Hieronyma alchorneoides Fr. All., einer brasilianischen Euphorbiacee, Kaliumsulfat.

Kieselsäure ist ein regelmäßiger Befund in der Asche von Nährgeweben, auch nach vollständiger Beseitigung kieselsäurereicher Samenbestandteile; die vorhandenen Analysen geben allerdings infolge der Beimengung der letzteren höhere SiO_2-Werte an. Für dünnschalige Samen oder entschälte Objekte seien nachstehende Werte für den SiO_2-Gehalt der Nährgewebsasche angeführt (nach WOLFF, l. c. Bd. II, p. 123).

Avena	1,16 %	Papaver	1,24 %	Theobroma	1,51 %
Fagopyrum	0,23 %	Gossypium	0,31 %	Cocos	0,50 %
Pisum	0,91 %	Vitis	1,04 %	Juglans	Spur
Lupinus	0,33 %	Coffea	0,54 %	Aesculus	0,18 %
Castanea	1,54 %	Quercus	1,07 %	Fagus	1,87 %

Nach DECROCK (3) sind bei Ravenala madagascariensis und guianensis in der inneren Steinschicht der Samenschale 10 % SiO_2 enthalten.

Die Schwankungen im Kieselsäuregehalte gehen herab bis zu unbestimmbaren Spuren. Über die Bindungsart der Kieselsäure und über die biochemische Bedeutung ihres regelmäßigen Vorkommens ist nichts bekannt.

Der Chlorgehalt der Asche von Samennährgeweben übersteigt selten 2 % der Reinasche; er beträgt mit großen Schwankungen bis zum Nullwert der gewöhnlichen Analysen meist 0,5—1,5 %. Häufig, jedoch nicht immer,

1) G. GOLA, Malpighia, *16* (1902); Biochem. Zentr. (1903), Ref. Nr. 1413. — 2) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *15*, 183 (1905). — 3) E. DECROCK, Compt. rend., *152*, 1406 (1911).

ist mit höherem Chlorgehalt ein höherer Natrongehalt der Asche gefunden worden, wie aus den nachfolgenden Zahlenwerten ersehen werden mag.

	Cl Proz.	Na_2O Proz.		Cl Proz.	Na_2O Proz
Winterweizen	0,32	2,7	Pisum sativum	1,59	0,98
Winterroggen	0,48	1,47	Phaseolus vulgaris	1,78	1,06
Sommergerste	1,02	2,39	Glycine hispida	0,27	0,98
Hafer	0,26	Spur	Lupinus luteus	0,77	0,91
Zea Mays	0,91	1,10	Vicia sativa	2,71	7,86
Panicum miliac.	0,49	1,30	Lathyrus sativus	1,52	1,34
Sorghum saccharatum	0,07	8,35	Trifolium pratense	1,23	0,95
Fagopyrum esculentum	1,30	6,12	„ repens	1,50	0,50
Beta vulgaris	10,79	15,58	Onobrychis sativa	1,21	2,74
„ Zuckerrübe	4,14	9,19	Ornithopus sativus	5,98	7,73
Daucus Carota	3,75	4,72	Carum Carvi	3,10	6,54
Cichorium Intybus	0,91	8,40	Coriandrum sativum	2,51	1,28
Brassica Rapa	Spur	1,24	Foeniculum officinale	3,41	2,38
„ Napus	0,16	1,23	Anethum graveolens	4,88	2,11
Sinapis alba	0,53	5,34	Rubia tinctorum	6,19	6,00
Papaver	4,58	1,03	Vitis vinifera	0,27	2,12
Linum	0,16	2,07	Coffea arabica	0,91	1,64
Gossypium	1,62	8,75	Theobroma	0,85	2,26
Cannabis	0,08	0,78	Cocos nucifera	13,42	8,39
Juglans regia	Spur	2,25	Aesculus Hippocastanum	6,30	Spur
Castanea vesca	0,52	7,12	Pinus silvestris	Spur	1,26
Quercus	1,76	0,63	Abies pectinata	0,35	7,06
Fagus silvatica	0,52	9,94	Amygdalus	Spur	0,23
Hyoscyamus	0,32	5,69	Helianthus annuus	2,42	7,41

Erwünscht wäre es, typische Halophyten in größerer Zahl auf Chlorgehalt des Samennährgewebes zu prüfen. In dieser Hinsicht ist von Interesse der hohe Chlorgehalt im Endosperm der Seestrand bewohnenden Cocospalme.

In den Versuchen von ASCHOFF (1) war in den Samen von Phaseolus multiflorus und vulgaris vom Gesamtchlor in Prozenten enthalten:

	Phaseol. multiflorus	Phaseol. vulg.
In den Cotyledonen ohne Testa	44,36 %	26,17 %
Im Rumpf der Keimlinge	4,92 %	10,54 %
Im Anquellwasser	31,83 %	5,49 %
In der Testa	18,89 %	58,22 %

Phaseolus multiflorus enthielt 0,7 g Cl auf 50 g Asche und 752 g Samentrockensubstanz, Ph. vulgaris 0,9 g Cl auf 20 g Asche und 408 g Samentrockensubstanz, Zea Mays 0,8 g Chlor auf 35 g Asche und 289 g Samentrockensubstanz. Da auch sonst die Physiologie des Chlors weit davon entfernt ist, abgeschlossen zu sein, so läßt sich auch bezüglich der Bedeutung des Chlorgehaltes der Samennährgewebe kaum etwas Sicheres sagen. Die derzeit meist verbreitete Ansicht, daß eine wesentliche Bedeutung des Chlors

---

1) C. ASCHOFF, Landw. Jahrb., *19*, 113 (1890). BALLAND, Journ. pharm. et chim., *15*, 105 (1917), fand in Cerealien u. Hülsenfrüchten meist weniger als 0,06 % Cl.

im Stoffwechsel nicht anzunehmen sei, möchte ich nicht ohne gewisse Vorbehalte hinnehmen.

Von sonstigen Aschenbestandteilen der Samennährgewebe sind Tonerde und Mangan in kleinen Quantitäten als sehr verbreitete Befunde zu erwähnen. YOSHIDA (1) wies Tonerde in einer Reihe von Objekten quantitativ nach. Er fand bei:

	Asche in Prozenten der Trockensubstanz	darin in Prozenten der Asche an Al_2O_3
Glycine hispida, ganze Samen .		0,053 %
„ „ Cotyledonen .	4,22 %	0,00 %
„ „ Samenschale .	4,31 %	0,268 %
Phaseolus radiatus	2,60 %	0,096 %
Oryza sativa	0,56 %	0,189 %
„ „	0,87 %	0,161 %
Triticum sativum	2,62 %	0,106 %
Hordeum vulgare	1,09 %	0,140 %
Panicum italicum	1,68 %	0,272 %
„ Crus corvi	0,94 %	0,185 %

RICCIARDI (2) fand in der Asche der Samen von Ficus carica 0,062% Aluminium, bei Lupinus albus 0,042%, bei Amygdalus communis 0,138% HEIDEPRIEM (3) wies auch im Zuckerrübensamen Tonerde nach neben Mangan Mangangehalt der Nährgewebsasche dürfte wohl in einer überaus großen Zahl von Fällen vorkommen, wie aus den sehr zahlreichen hierüber in der Literatur vorliegenden Angaben bereits zu ersehen ist. Bei Strychnos Ignatii Berg. ist die Asche des Samens nach FLÜCKIGER (4) ebenso wie die Asche von Holz und Fruchtschale dieser Pflanze des Mangangehaltes wegen bräunlich gefärbt.

Spuren von Kupfer sind, wie sonst in Organismen ungemein verbreitet, auch für Samennährgewebe in einer Reihe von Fällen nachgewiesen. Für verschiedene Sorten von Theobroma Cacao-Samen fand DUCLAUX (5) im Nährgewebe 0,0021—0,0040% Cu, in den Schalen aber 0,0035—0,0250%, also bedeutend mehr als im ersteren.

Spuren von Blei wies VOGTHERR (6) in dem Pericarp wie in den Samen der Randia dumetorum Lam. nach; für den Bleigehalt der Samen wird 0,02 ‰ angegeben.

§ 2.

Das Verhalten der Aschenstoffe während der Samenreife.

Untersuchungen über diesen Gegenstand liegen erst in geringer Zahl vor. ARENDT (7) verfolgte die Verhältnisse der Mineralstoffe während der Reifung der Haferkörner, desgleichen J. P. NORTON (8); PORTELE (9) machte Angaben über den Aschengehalt des reifenden Maiskornes, AMTHOR (10) untersuchte die reifenden Samen von Vitis vinifera; endlich

1) H. YOSHIDA, Just (1890), I, 50. — 2) L. RICCIARDI, Gazz. chim. ital., *19*, 150 (1890). — 3) HEIDEPRIEM, Landw. Vers.stat., *9*, 249. — 4) FLÜCKIGER, Arch. Pharm. (1889), p. 145. Mangangehalt von Samenschalen: MC HARGUE, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 2532 (1914). — 5) DUCLAUX, Bull. Soc. Chim. (1872), p. 33. — 6) VOGTHERR, Arch. Pharm. (1894), p. 489. — 7) R. ARENDT, Landw. Vers.stat., *1*, 50 (1860). — 8) J. P. NORTON, zit. bei WOLFF, Aschenanalysen, *1*, 27. — 9) K. PORTELE, Landw. Vers.stat., *32*, 241 (1885). — 10) C. AMTHOR, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 227 (1882).

sind Angaben über das relative Verhalten der Mineralstoffe von unreifen und reifen Samen von Phaseolus und Aesculus vorhanden (1).

Der Gehalt an Reinasche nimmt während der Samenreife prozentual konstant ab, wie aus allen vorhandenen Angaben zu ersehen ist. So fand PORTELE im Maisfruchtknoten unmittelbar nach der Blüte 5,45 % der Trockensubstanz an Aschenstoffen, in einem späteren Stadium, als die Körner nicht mehr leicht zerdrückbar waren, 4,82 %, als die Körner hart und gelb wurden, 2,81 %, zur Zeit des Entfahnens (11. September) 1,95 %, am 3. Oktober 1,44 %, in den am 11. Oktober zur Zeit der allgemeinen Ernte eingesammelten Proben 1,75 % Aschengehalt. Bei den Ährchen von Avena sativa fand ARENDT am 30. Juni 3,89 % Asche, am 10. Juli 3,67 %, am 21. Juli 2,82 %, am 31. Juli 2,68 % Aschengehalt. NORTON fand am 2. Juli 4,91 %, am 9. Juli 4,36 %, am 16. Juli 3,38 % Asche. Mittelzahlen für grüne Samen von Phaseolus vulgaris und multiflorus ergaben 4,65 % resp. 7,92 % Aschengehalt, für reife Samen 3,22 %. Unreife haselnußgroße Früchte von Aesculus enthielten 3,70 %, der Mehlkern reifer Früchte 1,96 % Asche. Nur in den Angaben von AMTHOR für Vitissamen tritt dieses Verhältnis nicht zutage, indem sich der Aschengehalt getrockneter Samen am 10. August bei beginnender Reife und Weichwerden der Beeren auf 3,04 %, am 22. August bei fast vollendeter Fruchtreife auf 3,14 %, am 4. September bei gänzlicher Fruchtreife auf 3,29 % stellte. Das Abnehmen des Aschengehaltes der reifenden Samen ist dahin aufzufassen, daß die organischen Reservestoffe viel rascher an Menge zunehmen als die Mineralstoffe. Absolute Zahlen für den Mineralstoffgehalt während der einzelnen Stadien der Samenreife, wie sie ARENDT für die Ährchen von 1000 Haferpflanzen gibt, zeigen das Anwachsen in den aufeinanderfolgenden Stadien deutlich: 15,664 g; 25,700 g; 31,859 g; 34,291 g.

Zuletzt hat SCHJERNING (2) an reifender Gerste den Gang des Gehaltes an Gesamtasche verfolgt, wie die nachfolgende Zusammenstellung an drei Versuchen zeigt.

Datum	Gewicht von 10000 Körnern in Gramm			Darin Proz. Trockensubstanz			Asche in Gramm in 200 Körnern		
1. 24. Juli Grünreife . . .	62,20	55,94	62,17	35,44	30,93	30,11	0,1403	0,1225	0,1310
2. 30. „ Ende d. Grünreife	72,76	74,61		46,00	36,65	·	0,2074	0,1765	·
3. 5. Aug. Gelbreife . .	75,17	87,53	92,20	56,81	43,11	51,34	0,2504	0,2260	0,2468
4. 8. „ Ende d. Gelbreife	75,90	89,56	·	58,75	50,99	·	0,2507	0,2435	·
5. 13. „ Vollreife . . .	61,43	83,02	69,9	72,97	59,96	66,78	0,2638	0,2455	0,2540
6. 19. „ Überreife . . .	48,22	71,76	58,04	82,12	67,30	70,59	0,2283	0,2566	0,2247

Datum	Trockensubstanz in 10000 Körnern			Asche in 10000 Körnern in Gramm		
1. 24. Juli Grünreife . . .	220,4	173,0	187,2	7,0	6,13	6,55
2. 30. „ Ende d. Grünreife	334,7	273,5	·	10,4	8,83	·
3. 5. Aug. Gelbreife . . .	427,0	377,3	473,4	12,5	11,30	12,34
4. 8. „ Ende d. Gelbreife	445,9	456,7	·	12,5	12,18	·
5. 13. „ Vollreife . . .	448,2	497,8	466,8	13,2	12,28	12,70
6. 19. „ Überreife . . .	396,0	483,0	409,7	11,4	12,83	11,24

Die Analysen zeigen in der Änderung des prozentischen Mischungsverhältnisses der einzelnen Bestandteile der Reinasche deutlich, daß die Aufnahme der Mineralstoffe in das in Ausbildung begriffene Nährgewebe mit ungleicher Intensität vor sich geht. So fand ARENDT die Asche der

---

1) WOLFF, l. c., *1*, 117; G. ANDRÉ, Compt. rend., *139*, 805 (1904). — 2) H. SCHJERNING, Compt. rend. Carlsberg, *6*, Heft 4 (1906).

Avenaährchen prozentisch während der untersuchten Reifungsstadien folgendermaßen zusammengesetzt:

Datum	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Chlor
30. Juni	33,68	1,26	8,96	5,72	0,46	15,20	2,90	4,82
10. Juli	22,56	1,50	8,76	6,01	0,14	20,85	·	3,79
21. „	17,14	0,60	8,69	7,25	·	33,50	1,51	5,00
31. „	13,03	0,15	7,35	8,96	·	36,50	4,96	3,84
Desgleichen NORTON:								
2. Juli	32,92	5,50	3,44	2,70	0,39	14,02	10,35	6,29
9. „	31,31	4,29	4,52	5,40	0,21	20,09	12,78	4,29
16. „	31,37	0,32	2,94	6,76	0,35	15,19	16,42	0,37
Für Phaseolus:								
Grüne Gemüsebohnen	36,83	19,88	7,75	6,33	2,78	17,06	3,96	1,70
Grüne Schminkbohnen	48,67	3,52	25,34	2,55	·	9,45	4,55	4,04
Reife Gartenbohnen .	44,01	1,49	6,38	7,62	0,32	35,52	4,05	0,86
Für Aesculus:								
Unreif	58,77	·	9,93	2,24	·	20,83	3,66	4,77
Reif	56,28	·	11,73	0,41	·	22,03	1,17	10,59

Das hervorstechendste Moment in allen diesen Angaben ist die starke Zunahme des Gehaltes von Phosphorsäure, die auch in den Untersuchungen von AMTHOR an Vitis hervortritt, obwohl hier nur vorgerückte Reifestadien zur Analyse kamen; in den obengenannten drei Stadien stieg der Gehalt an P_2O_5 von 0,892 auf 0,910 und 0,93 % der getrockneten Samen und das Verhältnis des Gehaltes an Phosphorsäure zum Aschengehalte von 1 : 3,4 auf 1 : 3,44 und 1 : 3,54.

Es wird demnach in den späteren Reifungsstadien reichlich Phosphorsäure von außen in das Nährgewebe aufgenommen, was sich auch in den von ARENDT für die Ährchen von 1000 Haferpflanzen in den untersuchten vier Reifungsperioden gegebenen absoluten Zahlen ausdrückt.

Datum	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
30. Juni	5,271 g	0,197	1,402	0,895	0,073	2,362	0,447	4,433	0,754
10. Juli	5,803 „	0,385	2,254	1,550	0,035	5,362	Spur	9,352	1,232
21. „	5,459 „	0,190	2,769	2,309	Spur	10,672	0,482	9,753	1,592
31. „	4,467 „	0,005	2,522	2,992	Spur	12,518	1,448	8,934	1,318

Nur der Magnesiagehalt zeigt ebenfalls ein kontinuierliches Ansteigen in stärkerem Maße als die übrigen Aschenstoffe. Der Kaligehalt scheint sein relatives Maximum schon in früheren Reifungsstadien zu erreichen und ändert sich in der Folge nur wenig oder zeigt selbst eine relative Abnahme in seinem Anteil an der Zusammensetzung der Nährgewebsasche. Der Gehalt an Kalk ändert sich in ähnlichen Verhältnissen; die übrigen Aschenbestandteile scheinen während der Samenreife nur in unerheblichem Maße aufgenommen zu werden.

Für die Phosphorsäure konnte ZALESKI (1) zahlenmäßig die Neubildung von Eiweiß-P auf Kosten des anorganischen P während der Samen-

1) W. ZALESKI, Ber. botan. Ges., *25*, 58 (1907).

reifung verfolgen. Im Verlaufe des Prozesses verschwanden 17,3% der anorganischen PO_4 und die P-haltigen Eiweißstoffe nahmen um 18,1% zu. Ob die Vermutung des genannten Forschers zutrifft, daß bei diesem Vorgange synthetische Wirkungen proteolytischer Enzyme im Spiele sind, müßte weiter geprüft werden.

IWANOFF (1) hatte schon früher durch mikrochemische Methoden ermittelt, daß während des Heranwachsens der Cotyledonen von Amygdalus, Prunus, Pisum anfangs reichlich anorganische PO_4 im Samen nachweisbar ist, welche sodann in organische gebundene PO_4 übergeführt wird. Die intensive Aufnahme von Mg und PO_4 während der ganzen Samenreife kann auch mit der Synthese von Phytin zusammenhängen. Im übrigen bedürfen aber diese experimentellen Studien noch einer umfassenden Neubearbeitung, um so mehr als die Löslichkeits- und Bindungsverhältnisse der einzelnen Aschenstoffe während der Entwicklung des Samens zum größten Teile unbekannt sind.

§ 3.

Die Resorption der Aschenstoffe aus dem Nährgewebe bei der Samenkeimung.

Seit den grundlegenden Experimentaluntersuchungen von WIEGMANN und POLSTORFF (1842) ist es eine der wichtigsten Tatsachen der Pflanzenphysiologie, daß die Summe der Aschenstoffe im keimenden Samen der im reifenden Samen vorhanden gewesenen Mineralstoffmenge genau gleichbleibt, sobald man durch Kultur in einem Medium, welches Aufnahme von fremden Aschenstoffen durch den Keimling absolut ausschließt, eine Vermehrung des Aschenstoffgehaltes der Keimlinge von außen her unmöglich macht. Es werden demnach keinerlei Verbindungen, welche flüchtig wären und in Gas- oder Dampfform an die Luft abgegeben würden, aus den vorhandenen Mineralstoffverbindungen im Keimungsstoffwechsel erzeugt: weder Schwefelwasserstoff noch flüchtige Phosphorverbindungen usw. Es handelt sich vielmehr bei der Keimung nur um eine Bewegung der im Nährgewebe vorhanden gewesenen Mineralstoffe nach den wachsenden Teilen von Keimstengel und Keimwurzel. Diese Vorgänge sind aber noch nicht hinreichend genug erforscht, als daß wir ein befriedigendes Bild von ihnen entwerfen könnten. Die vorhandenen experimentellen Arbeiten beschränken sich meist darauf, bei Keimlingen in aschenstofffreiem Medium den Gehalt der Reservestoffbehälter an Gesamtasche und deren prozentische Zusammensetzung mit den Mineralstoffvorräten der wachsenden jungen Pflanze zu vergleichen. In welcher Form die Aschenstoffe translociert werden, ist meist nicht sichergestellt. Auch sind wir über die Natur der Lösungsvorgänge im Nährgewebe selbst nicht unterrichtet. Daß bestimmte Stoffwechselvorgänge dahin wirken, dem Keimling die nötige Mineralstoffnahrung ebenso wie die gespeicherten organischen Reservestoffe leicht und in passender Form zugänglich zu machen, ist kaum zu bezweifeln. Endlich ist zu beachten, daß das Nährgewebe selbst als lebendes Organ anzusehen ist, welches mit dem Keimling in Stoffwechselkorrelationen tritt und in seiner Tätigkeit in jeder Hinsicht von dem Wachstum und dem Stoffbedarf des Keim-

---

1) L. IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 377, (1901).

lings abhängt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß man aus isolierten Nährgeweben in ähnlicher Weise, wie es HANSTEEN und PURIEWITSCH (1) bezüglich der Kohlenhydrate erfuhren, durch künstliche Ableitung auch eine partielle oder totale Entleerung bestimmter Mineralstoffe erzielen kann; Versuche in dieser Richtung sind aber nicht angestellt.

In der Natur kommen manche biologisch wichtige Momente hinzu. Da das Würzelchen des Keimlings sehr bald seine Funktion antritt, Aschenstoffe aus dem äußeren Substrate aufzunehmen, beginnt ein Wettstreit dieser Art von Mineralstoffgewinnung mit der Resorption von Mineralstoffen aus dem Nährgewebe. Die Kombinationen, die hierdurch entstehen müssen, sind bisher noch nicht untersucht. Auch kommen wohl die in der Testa resp. Fruchtschale von Schließfrüchten enthaltenen Aschenstoffe physiologisch nicht außer Betracht. Es scheint nicht, als ob besondere Einrichtungen beständen, dieselben zugunsten des Keimlings zu benützen; zahlreiche Erfahrungen zeigen, daß beim Einquellen der Samen ein großer Teil dieser Aschenstoffe in die Umgebung der Keimpflanze im Substrate diffundiert, und diese Stoffe können mit Beginn der Aschenstoffresorption durch das Würzelchen als Nahrung ausgenutzt werden. Nach DEZANI und BAROCELLI (2) gehen in den ersten 48 Stunden etwa $3^1/_4$ % der gesamten Mineralstoffe aus dem Samen in das Quellungswasser über.

Unter den ersten Experimentaluntersuchungen über die Aschenresorption aus dem Nährgewebe von Samen befanden sich die Analysen von BEYER (3) von keimendem Lupinus luteus. In 1000 Stück getrockneter Samen in ungekeimtem Zustande waren 3,384 g Gesamtaschenstoffe vorhanden. Als die Würzelchen 1—1,5 Zoll lang waren, die Cotyledonen aber noch nicht vortraten, enthielten bei 1000 Stück getrockneter Keimlinge die Cotyledonen 3,025 g, das Hypocotyl 0,323 g, die Würzelchen 0,150 g Gesamtasche. In einem weiteren Stadium, als die Cotyledonen ergrünt waren, war in 1000 Keimlingen die Verteilung 2,876 g Aschenstoffe in den Cotyledonen, 0,44 g in den Hypocotylen, 0,317 g in den Würzelchen.

Viel eingehender waren die Studien von SCHRÖDER (4) an Phaseolus multiflorus. Lufttrockene Samen des untersuchten Materials enthielten auf je 1000 g folgende Mineralstoffmengen in Grammen:

	K_2O	Na_2O	P_2O_5	MgO	CaO	Fe_2O_3	Gesamtasche
In Cotyledonen	17,90	1,32	9,59	2,49	0,51	0,05	31,86
Embryo . . .	0,07	0,01	0,11	0,02	0,01	0,00	0,22
Summe:	17,97	1,33	9,70	2,51	0,52	0,05	32,08

Als die Keimlinge ihre Primordialblätter ausgebildet hatten, und 2—3 Internodien mit Laubblättern besaßen, wurden neuerdings Analysen dargestellt und die gefundenen Aschenstoffmengen waren, auf je 1000 g lufttrockenen Materials der einzelnen analysierten Organe bezogen, folgende:

	K_2O	Na_2O	P_2O_5	MgO	CaO	Fe_2O_3	Gesamtasche
In den Cotyledonen . . .	7,03	0,50	2,36	0,99	0,48	0,04	11,40
In den Keimlingen	10,53	0,91	6,63	1,55	0,23	0,07	19,92
Summe:	17,56	1,41	8,99	2,54	0,71	0,11	31,32

1) HANSTEEN, Flora 1894), Erg.bd., p. 419; PURIEWITSCH, Jahrb. wiss. Botan., *31*, 1 (1898). — 2) DEZANI u. BAROCELLI, Atti Accad. Sci. Torino, *50*, 169 (1915). — 3) A. BEYER, Landw. Vers.stat., *9*, 168. — 4) SCHRÖDER, Ebenda, *10*, 493.

		K_2O	Na_2O	P_2O_5	MgO	CaO	Fe_2O_3	Gesamtasche
Im Keimling entfielen auf	Wurzel + Hypocotyl. . . .	2,60	0,31	1,74	0,24	0,10	0,03	5,02
	1. Internodium	2,45	0,20	1,20	0,23	0,05	0,01	4,14
	Primordialblattstiele . . .	1,37	0,09	0,43	0,11	0,02	0,00	3,02
	Primordialblätt.	1,56	0,24	1,34	0,47	0,03	0,02	3,66
	2. u. 3. Internod. u. Blätter .	2,55	0,07	1,92	0,50	0,03	0,01	5,08

Man ersieht aus diesen Zahlen ohne weiteres, daß die einzelnen Aschenstoffe der Cotyledonen von dem Keimling ungleich stark in Anspruch genommen worden sind. Noch deutlicher wird das Verhältnis, wenn man diese SCHRÖDERschen Zahlen in Prozenten der Gesamtasche ausdrückt. Von den einzelnen Aschenstoffen entfallen in Prozenten:

	Ungekeimte Samen		Keimpflanzen	
	Keimlinge	Cotyledonen	Keimlinge	Cotyledonen
K_2O	0,3896	99,611	59,96	40,04
Na_2O	0,7590	99,247	64,54	35,46
P_2O_5	1,1340	98,866	73,75	26,25
MgO	0,7960	99,204	61,02	38,98
CaO	1,9230	98,077	32,40	67,60
Fe_2O_3	—	100,0	63,64	36,36

Setzt man die in den Cotyledonen enthaltene Menge jedes einzelnen Aschenstoffes gleich 100, so beträgt die im Keimling enthaltene Quanität jedes Aschenstoffes:

	K_2O	Na_2O	P_2O_5	MgO	CaO	Fe_2O_3
bei ungekeimten Samen	0,390	0,765	1,15	0,802	1,96	0,0
in Keimpflanzen . . .	146,34	182,01	280,95	156,54	47,92	175,03

Wenn man die Zahlen der zweiten Kolonne durch die entsprechenden Zahlen der ersten dividiert, so geben die erhaltenen Quotienten ein anschauliches Bild von der Intensität, mit welcher die einzelnen Aschenstoffe durch die Keimpflanze aus dem Nährgewebe resorbiert werden. Diese Verhältniszahlen können als „Resorptionskoeffizient" oder „Wanderungskoeffizient" bezeichnet werden. Aus dem SCHRÖDERschen Versuche berechnen sich folgende Resorptionskoeffizienten: für Kali 382,87, für Natron 238,0, für Phosphorsäure 244,94, für Magnesia 195,1, für Eisen 175,03, für Kalk 24,40. Die Zahl für Kalk gleich 1 gesetzt, werden also Kali 15,67 mal, Natron 9,74 mal, Phosphorsäure 10,02 mal, Magnesia 7,98 mal, Eisen 7,16 mal so rasch vom Keimpflänzchen aufgenommen als der Kalk. Auch nach LE CLERC und BREAZEALE (1) wird Kali besonders rasch von Weizenkeimpflänzchen aufgenommen. Im übrigen muß noch die künftige Forschung lehren, ob diese Werte für relative Resorptionsgeschwindigkeit auch für andere Fälle zutreffen, und ob sich für den normalen Keimungsgang hier allgemeinere Regeln aufstellen lassen. Auch ist es nicht ausgeschlossen, daß sich die einzelnen Resorptionskoeffizienten durch Temperatur, Lichteinflüsse und andere Faktoren ändern. Vielleicht kann man auch

---

1) J. A. LE CLERC u. F. F. BREAZEALE, U. S. Dept. Agr. Bur. of Chem. Bull., 138 (1911).

willkürlich durch bestimmte Mineralstoffnahrung, die den Pflänzchen dargereicht wird, die einzelnen Resorptionskoeffizienten ändern. ANDRÉ (1) hat bei Schminkbohnen, welche im normalen Erdboden keimten und erwuchsen, gefunden, daß auch hier im Anfang die Aschenstoffe aus den Cotyledonen entnommen werden, und die Gesamtasche der Cotyledonen auf etwa $^2/_5$ abnimmt, obwohl Kieselsäure und Kalk von Anfang an dem Boden entnommen wird. Bei der Keimung der weißen Bohne im Dunklen war nach 25 Tagen $^2/_3$ des Ca in den Cotyledonen geblieben, Mg war zum größeren Teile, K fast vollständig aus den Cotyledonen entfernt; P und S waren zu $^3/_4$ in die junge Pflanze übergetreten. Daß die Zusammensetzung der Asche bei Keimpflanzen, welche Mineralstoffe aus dem Boden aufzunehmen Gelegenheit haben, bereits in den ersten Tagen der Keimung starke Abweichungen von „aschenstofffreien Kulturen" zeigt, geht schon aus älteren Analysen von Brassicakeimlingen durch WUNDER (2) und aus anderen Arbeiten hervor. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß bezüglich mancher Aschenstoffe die Notwendigkeit des Bezuges aus dem Boden sehr früh hervortritt, und mindestens die Darbietung der betreffenden Substanzen von außen erhebliche Vorteile darbietet. Ob dies bezüglich des Kalkes in dem Maße eintrifft, wie es in den Untersuchungen von BOEHM und LIEBENBERG (3) behauptet wurde, wäre wohl noch näher zu verfolgen; auch kann die schädliche Wirkung des Kalkmangels bei bestimmten Mischungen der Mineralstoffnahrung früher hervortreten, bei anderen später.

Die Form und Verbindung, in welcher die einzelnen Aschenstoffe aus dem Nährgewebe in die Keimpflanze einwandern, ist in den seltensten Fällen bestimmt. Schon Feststellungen der in Wasser, Alkohol, Äther löslichen Anteile jedes Aschenstoffes in Cotyledo resp. Endosperm und Keimpflanze während der einzelnen Keimungsstadien würden bessere Einsicht in diese Verhältnisse ermitteln, als wir sie jetzt besitzen. Für die Keimung von Pisum hat schon vor längerer Zeit KELLNER (4) die Quantität der wasserlöslichen Aschenstoffe in verschiedenen Keimungsperioden eruiert. Allerdings ist hier eine Trennung des Materials in Cotyledonen und Keimlinge nicht vorgenommen worden. In der ersten Keimungsperiode (5 Tage) war die Wurzel stark entwickelt, das Epicotyl noch zwischen den Keimblättern eingeschlossen; in der zweiten Periode (10 Tage) waren Nebenwurzeln entwickelt und die Endknospe in Entfaltung begriffen. Die Zahlen sind die in 100 g lufttrockenen Samen enthaltenen Mengen in Grammen:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	P_2O_5	Fe_2O_3	SO_3	SiO_2
Ungekeimte Samen, Gesamtasche .	1,030	0,010	0,100	0,161	0,816	0,013	0,472	0,021
Lösl. Mineralstoffe nach Quellg.	1,009	0,004	0,006	0,116	0,726	0,003	0,463	0,005
„ „ „ Per. I	0,998	0,003	0,064	0,116	0,698	0,005	0,430	0,007
„ „ „ „ II	0,970	0,004	0,054	0,111	0,683	0,005	0,310	0,007

1) G. ANDRÉ, Compt. rend., *129*, 1262 (1900), *133*, 1011 (1901), *167*, 1004 (1918). — An verschiedenen Pflanzen stellte auch G. D. BUCKNER, Journ. Agr. Res., *5*, 449 (1915); Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 282 (1919) einschlägige Versuche an. — 2) G. WUNDER, Landw. Vers.stat., *3*, 159 (1861). — 3) A. v. LIEBENBERG, Sitz.ber. Wien. Akad. (I), *84* (1881). J. BOEHM, Ebenda *71*, 287 (1875). L. v. PORTHEIM u. M. SAMEC, Flora, *94*, 263 (1905). Über Mangel an Mineralstoffen bei Weizenkeimlingen bes. auch WASNIEWSKI, Bull. Ac. Sci. Cracovie, 1914, p. 615 — 4) O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *17*, 412 (1874).

Nach diesen Resultaten würde sich die relative und absolute Menge der im Wasserextrakte enthaltenen Aschenstoffe nicht sehr ändern; der Kalk nimmt aber an Löslichkeit deutlich zu, während Phosphorsäure und Schwefel eine erkennbare Abnahme ihrer Wasserlöslichkeit zeigen. Wiederholt sind diese Untersuchungen bisher nicht, und es muß daher in suspenso bleiben, ob in allen Fällen ähnliche Resultate zu erhalten sind. Für die Phosphorsäure während der Keimung ist auf Grund mikrochemischer Untersuchungen und analytischer Erfahrungen von IWANOFF (1) anzunehmen, daß eine rasche Vermehrung der anorganischen Phosphate, oder überhaupt der PO_4-Ionen, erfolgt, so daß nach 30 Tagen bei Vicia sativa 93% des Gesamtphosphors in dieser Form vorliegt. Da nach KELLNERS Erfahrungen die Wasserlöslichkeit abnimmt, könnte man an zunehmenden Gehalt an Ca- und Mg-Phosphat denken. Übrigens hat auch ANDRÉ (2) die Vermehrung an Phosphat während der Keimung konstatiert, sowie schon früher TAMMANN (3).

Besonders der Phosphorumsatz bzw. die Mineralisierung des im Samen reichlich gebotenen organischen P ist in neuerer Zeit viel untersucht worden. Sehr anschaulich stellt dieser Prozeß sich in den Studien von STANISZKIS (4) an Panicum miliaceum dar, wo auch die graphische Darstellung des PO_4-Umsatzes während des ganzen Vegetationscyclus gegeben wird. An Hordeum wurde der Prozeß durch ADLER und durch WINDISCH verfolgt (5). Für Oryza haben BERNARDINI und MORELLI (6) in der Keimung im Dunklen besonders die Phytinspaltung unter Abspaltung von MgO der Aufmerksamkeit gewürdigt. Bei der Lichtkeimung nimmt bald der Gehalt an löslicher MgO ab, weil sie zur Chlorophyllbildung verbraucht wird. Auch PLIMMER (7) hat die Frage des Phytinumsatzes eingehend studiert. ADLER nimmt an, daß mindestens zwei Formen der Phosphatasewirkung im Malz zu unterscheiden sind: die eine besteht in der Lösung der organischen unlöslichen Phosphatkomplexe, die andere in der Bildung anorganischer Phosphate. Doch ist die Wirkung wahrscheinlich eine stufenweise. Die Phytase spielt hierbei eine Hauptrolle. Über die Einflüsse von Temperatur, Wasserstoffkonzentration u. a., ferner über die Natur der in Betracht kommenden Enzyme als Sekretionsenzyme vgl. ADLER, l. c. 1915. Der P-Umsatz mit Rücksicht auf den Gehalt an Nuclein-PO_4 wurde durch ZALESKI (8) und IWANOFF (9) erörtert. Der Vorgang scheint enzymatischer Natur zu sein, und die Mineralisierung des P tritt zuerst in den wachsenden Teilen des Embryos in Erscheinung.

Über die Verhältnisse des Schwefels bei der Keimung verdanken wir TAMMANN nähere Aufklärungen. Dieser Forscher stellte fest, daß beim Keimen von Pisum unter Lichtabschluß eine Vermehrung der ursprünglich nur in geringen Mengen vorhandenen Schwefelsäure (0,067%, 0,073%) auf das Dreifache erfolgt. Diese Bildung von SO_4-Ionen kann hauptsächlich nur auf Kosten des in cysteinartiger Bindung vorhanden gewesenen Eiweiß-

1) IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 355 (1901). Ber. botan. Ges., *20*, 366 (1902). Botan. Zentr., *99*, 488 (1906). E. SCHULZE u. CASTORO, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 481 (1904. — 2) G. ANDRÉ, Compt. rend., *132*, 1577 (1901). — 3) G. TAMMANN, Ztsch. physiol. Chem., *9*, 416 (1885). — 4) W. STANISZKIS, Anzeig. Akad. Krakau (1909), p. 95. — 5) L. ADLER, Ztsch. ges. Brauwes., *35*, 181 (1912); Biochem. Ztsch., *70*, 1 (1915). W. WINDISCH u. W. VOGELSANG, Woch.schr. f. Brauerei, *23*, 516 (1906). WINDISCH, Jahrb. d. Versuchs- u. Lehranstalt f. Brau., Berlin, *9*, 36 (1906). — 6) L. BERNARDINI u. GIU. MORELLI, Atti Acc. Linc. (5), *21*, 357 (1912). — 7) R. H. A. PLIMMER, Biochem. Journ., *7*, 43, 72 (1913). — 8) W. ZALESKI, Ber. botan. Ges., *24*, 285 (1906). — 9) L. IWANOFF, Arbeit. St. Petersburg. Nat. Ges., *34* (1904). Just (1907), I, 845.

schwefels erfolgen [SCHULZE (**1**)]. Damit steht die Feststellung von SERTZ (**2**) im Einklange, daß bei der Keimung von Lupinus luteus der Gehalt an bleischwärzendem Schwefel stark abnimmt.

Das Eindringen von Basen und Säuren in Samen hat PLATE (**3**) verfolgt; soweit über diese von nicht genügend weiten Gesichtspunkten ausgehenden Angaben hier berichtet werden kann, sei darauf hingewiesen, daß $Ba(OH)_2$ und $Ca(OH)_2$ nicht eindringen sollen, während Säuren mit Ausnahme von HCl gut passieren.

Dreiundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel von unterirdischen Reservestoffbehältern.**

§ 1.

Die vorkommenden Aschenstoffe.

Seit älterer Zeit [HERAPATH (**4**) und andere Untersucher] sind viele Analysen von Rhizomen, Knollen, Zwiebeln, Speicherwurzeln vorgenommen worden. Soweit man erkennen kann, reihen sich die hier herrschenden Verhältnisse durchaus an diejenigen der Aschenstoffe von Samennährgeweben an. Jedoch treten bei den genannten Organen die prägnanten Eigenschaften von Reservestoffbehältern manchmal nur in den späteren Lebensstadien hervor, indem dieselben in jüngeren Lebensperioden der Nahrungsaufnahme aus dem Boden dienen und dann erst ihren Funktionswechsel zu Speicherorganen durchmachen. In den vorliegenden Aschenanalysen läßt sich dieser Punkt häufig nicht in genügender Schärfe erkennen.

Bei den unterirdischen Reservestoffbehältern kehrt der relativ geringe Aschenstoffgehalt anderer Speicherorgane wieder. Sehr selten beträgt die Reinaschenzahl 10% der Trockensubstanz, und das Minimum liegt etwa bei 2%. Die in der 1. Auflage des Buches (Bd. II, p. 752ff.) angeführte größere Zahl von Analysenresultaten wird dies näher erläutern, doch haben diese Angaben kein so bedeutendes Interesse, als daß sie hier ausführlich wiederholt werden müßten. Überdies sollten Analysen zu wissenschaftlich-physiologischen Zwecken Reservestoffbehälter im Zustande der Vegetationsruhe und maximalen Füllung verwenden und nur jene Teile derselben berücksichtigen, nach Beseitigung der Rinde usw., welche tatsächlich als Speichergewebe dienen. Arbeiten mit diesen Voraussetzungen liegen aber zur Zeit kaum vor.

Ähnliche Reserve, wie sie gegenüber den vorliegenden Gesamtaschenzahlen geboten ist, müssen wir uns auch in der Beurteilung des Gehaltes an einzelnen Aschenbestandteilen auflegen. Der Kaligehalt ist meist mit ungefähr der Hälfte des Reinaschengewichtes angegeben und im allgemeinen begegnen wir hier eher höheren Zahlen als bei Samennährgeweben. Der

---

1) E. SCHULZE, Landw. Jahrb. (1876), p. 821. Landw. Vers.stat., *19*, 172 (1876). Über Schwefelverbindungen in keimenden Samen ferner G. GOLA, Malpighia, *18* (1905). — **2**) H. SERTZ, Ztsch. physiol. Chem., *38*, 323 (1903). — **3**) F. PLATE, Rend. Acc. Linc. (5a), *22*, II, 133 (1913). — **4**) TH. S. HERAPATH, Lieb. Ann., *72*, 350 (1849).

K_2O-Gehalt der Asche unterirdischer Reservestoffbehälter kann aber selbst 70 % übersteigen, und in einem von WOLFF angeführten Falle wurde in Zuckerrübenasche 78,4 % K_2O konstatiert. Werte unter 30 % K_2O sind relativ selten. Nach ANDRLIK und URBAN (**1**) enthält Zuckerrüben-Reinasche immer mehr K_2O und wenig Natron; die Veredlung der Rasse bedingt Erhöhung des Gehaltes an Ca, Mg und PO_4 und Verringerung der Alkalien. Auch im Preßsafte der feinen Wurzeln der Zuckerrübe überwiegen K, Na und Cl (**2**). Bezüglich der mikrochemischen Lokalisation des Kali in der Zuckerrübe ermittelte MATOUŠEK, daß sie alle Teile der Wurzel in wechselnder Menge betrifft; jedoch ist der Kopf der Wurzel mehr kalihaltig (**3**). Der Gehalt an Natron erreicht auf NaCl-haltigem Terrain und bei Salzpflanzen in den unterirdischen Speicherorganen manchmal eine beträchtliche Höhe und kann über 30% der Reinasche betragen. In anderen Fällen sinkt er bis auf Spuren herab. Auch die Zuckerrübe kann nach URBAN (**4**) viel Natronsalze aufnehmen und die Pflanzen sind dann kräftig entwickelt; doch dient Na keinesfalls als Ersatz des Kali bei der Zuckerbildung. Der Kalkgehalt der Asche von unterirdischen Speicherorganen schwankt ungemein. In typischen und reifen Reservestoffbehältern beträgt er meist unter 10%, ähnlich wie bei Samennährgeweben, und kann hier und da selbst unter 1% sinken. Manche Wurzeln enthalten aber wieder ungemein viel Kalk in ihrer Asche. Nach den von WOLFF (l. c. I, 117) mitgeteilten Analysen wurde für offizinelle Rheumwurzel 76,54% und 84,63% CaO in der Asche gefunden (**5**), im Rhizom von Rubia tinctorum 34,54 %, im Rhizom von Nephrodium filix mas 43,27%, in Allium Cepa 22,87%. Der Magnesiagehalt stellt sich relativ niedriger als in Samennährgeweben, indem die gefundenen Werte meist 3—6%, selten über 10% betragen und ziemlich bedeutend schwanken. Es sei daran erinnert, daß die höheren Zahlen für MgO hauptsächlich fettreiche und an Proteinkörnern reiche Samennährgewebe betreffen; derartige Verhältnisse werden aber bei unterirdischen Reservestoffbehältern kaum gefunden. Die Zahlen für den Eisengehalt sind sehr schwankend, aber fast durchaus ebenso gering wie bei Samen. Sehr auffällig ist eine von WOLFF mitgeteilte Angabe von 10,42% Fe_2O_3 in der Asche von Glycyrrhiza. Nach STOKLASA (**6**) wäre es möglich, aus Allium Cepa durch Behandlung des entfetteten Materials mit sehr verdünnter HCl eine organische Eisenverbindung zu gewinnen, welche mit dem von RUNGE aus Eidotter dargestellten „Hämatogen" identisch zu sein schien (**7**). TARBOURIECH und SAGET (**8**) berichteten über eine organische N-haltige Eisenverbindung aus der Wurzel von Rumex obtusifolius, möglicherweise zu den Nucleinsäuren zählend, und ein Ferriderivat der SIEGFRIEDschen Nucleone darstellend. GILBERT und LEREBOULLET (**9**) geben an, daß sie durch Begießen mit $FeCO_3$-Lösung in der Wurzel von Rumex crispus eine Anreicherung von 1,5% organisch gebundenen Eisens erreicht hätten. Tonerde. Der Gehalt der Zuckerrübe an Al_2O_3 wird von PELLET und FRIBOURG (**10**) mit 0,03—0,05 % angegeben.

---

1) K. ANDRLIK u. J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *33*, 418 (1909). — **2**) K. ANDRLIK, Ebenda, *29*, 403 (1905). — **3**) A. MATOUŠEK, Ebenda, *38*, 235 (1914). — **4**) J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *30*, 397 (1906). — **5**) Für Rheum ferner A. SEMMEL, Arch. Pharm., *256*, 91 (1918). — **6**) J. STOKLASA, Compt. rend., *127*, 282 (1898). — **7**) Vgl. HUGOUNENQ u. MOREL, Ebenda, *140*, 1065 (1905). — **8**) P. J. TARBOURIECH u. P. SAGET, Ebenda, *148*, 517 (1909). — **9**) A. GILBERT u. P. LEREBOULLET, Soc. Biol., *60*, 847 (1906). — **10**) H. PELLET u. CH. FRIBOURG, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 1865 (1905).

Der Gehalt an Phosphorsäure kann auch in unterirdischen Speicherorganen recht bedeutend sein und bis nahe an 30% der Reinasche ansteigen. Doch ist er meist wesentlich niedriger als in Samennährgeweben. Die Durchschnittswerte bewegen sich zwischen 15 und 20% der Reinasche. Daß man in vielen Zwiebeln und Knollen durch Einlegen der Organe in Alkohol reichliches Vorhandensein von Calciumphosphat konstatieren kann, welches in Form von Sphärokrystallen ausgeschieden wird, geht aus einer Reihe von Beobachtungen von HANSEN, LEITGEB, ZIMMERMANN und IWANOFF hervor (**1**). Doch fand IWANOFF in den Blütenstandzwiebeln von Allium Schoenoprasum nur sehr geringe Mengen von Calciumphosphat. Arsen wurde bei Allium polyanthum durch JADIN und ASTRUC (**2**) in einer Menge von 0,003 mg auf 100 g Pflanzensubstanz nachgewiesen. Der Gehalt an Schwefel, Kieselsäure und Chlor in unterirdischen Speicherorganen ist bedeutenden Schwankungen unterworfen.

Einzelheiten sind aus den nachfolgenden analytischen Daten zu ersehen, die überhaupt das im voranstehenden Gesagte näher illustrieren sollen.

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
1. Solanum tuberosum	60,06	2,96	2,64	4,93	1,10	16,86	6,52	2,04	3,46
2. Helianthus tuberos.	47,74	10,16	3,28	2,93	3,74	14,00	4,91	10,02	3,87
3. Beta: Zuckerrübe .	53,13	8,92	6,08	7,86	1,14	12,18	4,20	2,28	4,81
4. Brassica Rapa . .	46,93	5,65	11,33	3,68	0,61	14,51	9,62	1,06	6,59
5. Daucus Carota . .	36,92	21,17	11,34	4,38	1,01	12,79	6,45	2,38	4,59
6. Cichorium Intybus .	38,30	15,68	7,02	4,69	2,51	12,49	7,93	4,93	6,95
7. Pastinaca officinal. .	54,50	1,51	11,44	5,71	1,12	19,52	5,19	1,61	3,79
8. Armoracia rustican.	38,96	2,10	10,10	3,66	1,51	10,39	24,72	7,20	1,36
9. Rhaphanus sativus .	21,98	3,75	8,78	3,53	1,16	41,12	7,71	8,17	4,90
10. Apium graveolens .	43,19	—	13,11	5,82	1,41	12,83	5,58	3,85	15,87
11. Allium Porrum . .	30,72	14,15	10,37	2,92	7,61	16,69	7,35	7,36	3,11
12. „ Cepa . . .	34,03	2,48	22,87	4,65	2,27	17,35	5,68	8,50	2,41
13. Dioscorea japonic. .	50,70	·	10,09	7,77	2,70	4,83	5,90	·	·
14. Nelumbo nucifera .	42,58	·	3,98	5,28	1,19	13,96	8,16	·	·
15. Sagittaria sagittifol.	62,11	·	1,30	3,59	0,68	14,41	4,99	·	·
16. Lappa major . . .	41,61	·	10,46	19,01	2,42	8,13	·	·	·
17. Batatas edulis . .	53,27	·	12,78	9,23	0,68	8,49	·	·	·
18. Colocasia antiquor. .	66,0	·	4,16	6,83	1,18	9,11	·	·	·
19. Conophallus konjaku	54,52	·	12,48	5,28	0,87	6,68	·	·	·
20. Lilium tigrinum . .	53,50	·	1,59	3,23	0,41	10,21	·	·	·
21. Iris germanica . .	33,18	·	41,06	3,26	2,71	0,11	8,86	·	·
22. Dioscorea edulis .	47,49	10,636	13,354	3,433	0,695	9,987	3,55	0,853	12,45
23. Odontoglossum crisp.	25,31	1,76	19,78	11,21	0,07	3,07	1,05	2,17	1,92

Die Analysen 1—12 sind dem Werke WOLFFS entnommene Mittelwerte (**3**), die Analysen 13—20 stammen von KELLNER (**4**), 21 von PASSERINI (**5**), 22 von MOSER (**6**) und 23 von GRÜTZNER (**7**). In dem letzten Untersuchungsobjekte wurden auch Spuren von Tonerde, Mangan und Lithium gefunden.

Für Phosphorsäure und Eisen gab HAENSEL (**8**) nachstehende Analysenergebnisse:

---

1) HANSEN, Flora (1889), p. 408; Arbeit. Botan. Inst. Würzburg, *3*; LEITGEB, Botan. Ztg. (1887), p. 129; Mitteil. Botan. Inst. Graz (1888); ZIMMERMANN, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pfl.zelle, p. 311; IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 361 (1901); Calciumphosphatsphärite im unterirdischen Sproßteil von Kleinia: H. KAHNS, Dissert. Kiel (1909). — **2**) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *154*, 893 (1912). — — **3**) WOLFF, l. c., *2*, 125, 127, 128. — **4**) O. KELLNER, Jahresber. Agr. Chem. (1886), p. 65; (1884), p. 111 u. 117. — **5**) N. PASSERINI, Ebenda (1882), p. 178. — **6**) J. MOSER, Landw. Vers.stat., *20*, 113 (1877). — **7**) R. GRÜTZNER, Chem. Zentr. (1895), II, 142. — **8**) E. HAENSEL, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909).

	in Proz. der Trockensubstanz			in Proz. der Asche	
	Asche	PO_4	Fe_2O_3	PO_4	Fe_2O_3
Kohlrabi, Kopf	7,124	1,0737	0,050	15,070	0,7018
Sellerie, ,,	7,380	1,6858	0,128	22,440	1,7344
Möhre	5,760	0,7600	0,098	13,226	1,7361
Rettich	6,900	0,7728	0,028	11,139	0,4058
Zwiebel	3,380	0,7524	0,032	22,260	0,9467
Rote Rübe	5,008	0,8748	0,050	17,346	0,9985
Kartoffel, magnum bonum	3,720	0,4674	0,090	12,526	2,4193

Analysen von Ipecacuanhawurzel nach HOLMES (**1**):

	Gesamt-asche	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Mn_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_3	Cl
Brazil	2,04	25,53	2,70	15,50	13,57	0,30	12,70	7,40	11,02	Spur
Carthagena	2,72	7,42	2,25	17,00	10,68	0,58	5,16	5,05	.	
Johore	1,80	28,55	2,06	16,87	14,25	0,45	13,81	8,57	10,50	

ANDRÉ (**2**) untersuchte die Asche von Knollen und Wurzeln während der Entwicklung und fand meist mit zunehmendem Alter des Organs eine relative Abnahme des Mineralstoffgehaltes; bei Kartoffeln war eine Änderung des Aschengehaltes nicht festzustellen. Bei Allium Cepa fand derselbe Forscher (**3**) entsprechend der Biologie der Zwiebelpflanzen erst eine Abnahme dann nach erfolgter stärkerer Bewurzelung eine regelmäßige Zunahme des Aschengehaltes. Die Zuckerrübe wurde hinsichtlich K und Na von URBAN (**4**) untersucht.

Nach den Zusammenstellungen von WOLFF (l. c. II 134) sind ferner die bezüglich der einzelnen Aschenstoffe konstatierten Quantitätsschwankungen in ihrem relativen Verhältnisse für einige Untersuchungsobjekte folgende:

Solanum tuberosum: Kali 44—73,6%; Natron 0—17,5%; Kalk 0,4—7,2%; Magnesia 1,3—13,6%; Eisen 0—7,2%; Phosphorsäure 8,4 bis 27,1%; Schwefelsäure 0,4—14,9%; Kieselsäure 0—8,1% und Chlor 0,7 bis 12,6%.

Futterrunkelrübe: Kali 25,6—69,4%; Natron 5,3—39,2%; Kalk 1,9—8,8%; Magnesia 2,1—7,9%; Eisen 0,3—3,1%; Phosphorsäure 2—13%; SO_3 2—6%; Kieselsäure 0—10% und Chlor 1,9—35,5%.

Turnips: Kali 26,6—62,6%; Natron 0—20,7%; Kalk 5,5—15,9%; Magnesia 1,6—6,4%; Eisen 0,2—2,9%; Phosphorsäure 5,5—18,9%; Schwefelsäure 2,6—18,1%; Kieselsäure 0—8%; Chlor 1,4—13,4 %.

Daucus Carota: Kali 17—55,8%; Natron 10,9—34,8%; Kalk 6,9 bis 16,5%; Magnesia 0,6—7,3%; Eisen 0—2%; Phosphorsäure 9,6—16,4%; Schwefelsäure 3,5—11,7%; Kieselsäure 0,9—5,7%; Chlor 0—10,5%.

Cichorium Intybus: Kali 27,9—54,9%; Natron 2,8—24,7%; Kalk 4,4—10,8%; Magnesia 1,3—8,1%; Eisen 0,8—7,2%; Phosphorsäure 8,7 bis 16,3%; Schwefelsäure 5,1—15,1%; Kieselsäure 1,1—17,2%; Chlor 1,8 bis 10,6%.

Rubia tinctorum: Kali 26,6—52,7%; Natron 0,4—15,9%; Kalk 11,7—36,2%; Magnesia 3,1—20,4%; Eisen 0,3—3,4%; Phosphorsäure 4,6—11,5%; Schwefelsäure 1,3—3,9%; Kieselsäure 0,6—6,1%; Chlor 2,6 bis 13,3%.

---

1) E. M. HOLMES, Pharm. Journ. (4), *28*, 765 (1909). — **2**) G. ANDRÉ, Compt. rend., *146*, 1420 (1908). — **3**) ANDRÉ, Ebenda, *150*, 713 (1910). — **4**) J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *41*, 415 (1917).

Pastinaca sativa: Kali 36,1—65%; Natron 0—6,1%; Kalk 7,7 bis 16,8%; Magnesia 0—9,9%; Eisen 0—2%; Phosphorsäure 15,6—23,8%; Schwefelsäure 3,9—6,5%; Kieselsäure 0—4,1%; Chlor 2,8—4,7%.

Impomoea Batatas: Kali 43,7—59,7%; Natron 1,9—10,6%; Kalk 2,4—14%; Magnesia 1,7—5,1%; Eisen 0,5—1,5%; Phosphorsäure 9,4 bis 12,4%; Schwefelsäure 3,6—8,3%; Kieselsäure 0,9—7,1%; Chlor 10,7 bis 15,1%.

§ 2.

Das Verhalten der Aschenstoffe während der Reifung unterirdischer Speicherorgane.

Während das Verhalten der Aschenstoffe während des Austreibens unterirdischer Reservestoffbehälter nach Beendigung der Vegetationsruhe noch so gut wie gar nicht untersucht ist, gestattet eine Anzahl von analytischen Studien, die allerdings vorwiegend praktischen Zielen gewidmet waren, uns wenigstens ein vorläufiges Bild von der Bewegung der Mineralstoffe während des Heranwachsens und Ausreifens der unterirdischen Speicherorgane zu geben. So weit diese Untersuchungen erkennen lassen, sind die Verhältnisse jenen bei reifenden Samen nicht unähnlich. Auch hier vermindert sich der prozentische Gehalt der Trockensubstanz der Organe an Aschenbestandteilen, indem die organischen Reservestoffe in viel stärkerem Maße als die Mineralsubstanzen vermehrt werden. Fast immer deutlich ausgeprägt ist die fortschreitende prozentische Verminderung des Kalkgehaltes der Reinasche und die prozentische Vermehrung ihres Phosphorsäuregehaltes. Das Kali pflegt sich eher relativ zu vermindern; die Magnesia zeigt in einzelnen Fällen eine relative Vermehrung. Der Schwefelsäuregehalt desgleichen. Der Eisengehalt ist in der Regel in reifen Speicherorganen prozentisch geringer geworden.

In zwei an Kartoffelknollen angestellten Untersuchungen, welche bei Wolff (l. c., Bd. I, p. 74, 75) wiedergegeben sind, treten die meisten dieser Charakterzüge hervor:

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kiesels.	Chlor
I. Knollen 92 Tage nach d. Saat	5,76	66,3	2,6	2,9	1,4	1,6	13,0	4,5	3,6	5,1
„ 111 „ „ „ „	4,21	63,8	2,2	2,6	4,0	1,9	15,7	4,1	2,3	4,3
„ 126 „ „ „ „	4,89	63,5	1,9	3,1	3,6	2,0	14,6	5,0	2,4	5,0
„ 154 „ „ „ „	4,54	64,8	1,4	2,0	4,3	1,9	16,8	4,7	1,4	3,4
II. Knollen am 1. Juli . .	3,36	56,78	4,91	5,61	4,79	1,17	14,95	6,42	2,22	3,05
„ „ 29. „ . .	2,27	62,75	1,07	2,88	4,97	0,63	13,70	8,02	2,53	4,77
„ „ 28. August .	2,66	60,12	1,19	3,32	5,11	1,29	15,06	8,46	3,38	2,65
„ „ 2. Oktober .	2,68	53,07	2,60	2,87	5,91	0,63	19,70	12,40	1,48	1,76

Besonders zahlreiche Untersuchungen sind der Entwicklung der Zuckerrübe gewidmet worden, bei welcher die Änderungen im Gehalte an Mineralstoffen in Beziehung zur dargereichten Düngung und in Beziehung zum Zuckergehalte der Speicherwurzel von großem praktischen Interesse waren. Von dem Gange der Veränderungen im Aschenstoffgehalte während der Ausbildung der Zuckerrübe gibt die nachfolgende Untersuchungsreihe ein Bild (Wolff, l. c., Bd. I, p. 7).

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kiesels.	Chlor
Wurzel am 20. Juli . .	7,31	48,0	14,25	3,44	7,89	0,73	15,99	4,22	3,34	2,77
„ „ 9. August .	6,81	41,0	12,60	5,08	9,33	1,12	18,42	4,47	3,34	6,0
„ „ 31. „ .	6,66	44,69	10,38	5,47	9,17	1,52	16,82	4,97	4,70	2,95
„ „ 15. Septemb.	5,02	46,44	7,82	6,52	9,96	0,83	16,92	4,20	4,66	3,43
„ „ 30. „	4,33	48,34	6,73	6,65	8,66	0,70	18,58	4,31	3,40	3,40
„ „ 16. Oktober	3,83	44,08	5,72	6,46	10,48	1,15	17,85	8,89	3,06	2,97

Daß der Aschengehalt der Wurzeln mit zunehmender Zuckerspeicherung prozentisch abnimmt, ist eine vielfach erwähnte Erfahrung, und man findet auch hervorgehoben, daß zuckerreiche Rassen sich durch niedrigen prozentischen Mineralstoffgehalt auszeichnen [SCHNEIDEWIND und MÜLLER (1)]. Entsprechend der geringen Mehrspeicherung von Kali während der Reife schädigt Kalimangel erst dann, wenn die Kalizufuhr auf ein Minimum herabgesetzt wird [WILFARTH, RÖMER und WIMMER (2)]. Sehr ausgeprägt ist der Vorteil, welchen eine gute Versorgung mit Phosphorsäure gewährt. Ist wenig P_2O_5 geboten, so wird nach WILFARTH eine zwar zuckerreiche, doch kleine Wurzel erzeugt. Reichliche Darreichung von Phosphat äußert sich sowohl im gesteigerten Wachstum als im höheren Zuckergehalte [PÉLIGOT, JOULIE, PELLET (3)]. Nach Ermittelungen von GRÉGOIRE (4) scheint es aber, als ob die stärkste Ausnützung und Wirkung der dargereichten Phosphorsäure in die ersten Stadien des Vegetationsganges fiele, also leicht lösliche Phosphate einen größeren Vorteil böten. Im Safte der Zuckerrübe findet sich nach PÉLIGOT viel phosphorsaures Kali und viel phosphorsaure Ammoniakmagnesia.

Für die Entwicklung von Turnips wurden folgende Befunde verzeichnet (WOLFF, l. c., Bd. I, p. 92, 93):

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
I. Wurzel 2 Wochen alt	17,77	17,07	7,42	29,7	7,42	8,17	9,44	11,03	9,65	·
„ 3 „ „	17,73	25,52	9,60	31,0	6,86	3,29	7,69	10,05	5,89	·
„ 7 „ „	7,88	21,95	9,18	21,32	7,99	5,33	10,66	14,47	7,23	2,39
„ 13 „ „	11,34	32,36	14,53	8,47	4,50	6,26	13,67	12,26	5,56	3,10
„ 18 „ „	8,85	41,81	9,33	8,25	4,07	1,81	15,03	12,54	2,60	5,90
„ 21 „ „	9,16	43,12	9,32	9,28	3,82	1,75	16,92	11,14	1,31	4,38
II. Wurzel am 7. Juli . .	15,80	21,95	9,88	13,99	9,39	5,99	12,83	10,78	10,69	5,83
„ „ 11. August .	7,74	36,29	15,88	9,61	4,59	2,52	13,73	10,40	2,86	5,30
„ „ 1. September	8,96	33,30	11,15	9,76	4,68	1,59	12,65	19,03	3,12	6,21
„ „ 5. Oktober .	9,32	31,40	12,40	13,58	5,57	1,54	11,38	14,64	3,48	6,54

Für die Wurzel von Daucus Carota (l. c., p. 96):

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
Am 25. Juli	6,51	28,67	34,67	8,75	5,72	0,39	13,19	4,44	2,19	2,56
„ 14. August	7,04	26,29	39,50	7,68	6,14	0,53	12,27	4,41	1,27	2,48
„ 4. September . . .	6,29	29,11	29,50	10,24	6,75	0,89	14,56	4,52	3,34	1,41
„ 19. „ . . .	6,01	22,19	33,99	10,85	6,35	0,45	16,11	7,27	1,04	2,26
„ 10. Oktober	6,04	30,48	28,86	11,53	6,46	0,49	14,99	3,49	2,08	2,09

---

1) W. SCHNEIDEWIND u. H. C. MÜLLER, Journ. f. Landw., *44*, 1 (1896). PAGNOUL, Compt. rend., *80*, 1010 (1875); URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *41*, 415 (1917). — 2) H. WILFARTH, RÖMER u. WIMMER, Ztsch. Ver. Rüb.zuck.Ind. (1901), p. 993. — 3) E. PÉLIGOT, Compt. rend., *80*, 219, 133 (1875); H. JOULIE, Ebenda, *82*, 290 (1876); PELLET, Ann. Chim. et Phys. (5), *16*, 145 (1879). — 4) ACH. GRÉGOIRE, Chem. Zentr. (1903), II, 59.

Cichorium Intybus (l. c., p. 97):

	Rein-asche	Kali	Natron	Kalk	Mag-nesia	Eisen	Phos-phor-säure	Schwe-fel-säure	Kiesel-säure	Chlor
Wurzel 40 Tage alt . .	8,05	47,75	16,67	15,52	1,88	1,66	4,41	5,53	1,53	5,42
„ 50 „ „ . .	5,43	47,22	18,41	13,44	2,45	0,87	4,58	5,09	1,21	7,61
„ 60 „ „ . .	4,11	43,75	18,51	12,39	3,66	1,25	6,81	5,42	0,96	9,64
„ 70 „ „ . .	3,68	44,02	16,09	9,25	5,19	0,91	10,08	5,05	0,78	9,86
„ 80 „ „ . .	3,22	42,58	16,29	8,42	5,48	0,97	11,64	5,67	0,98	9,81
„ 90 „ „ . .	2,89	43,21	15,87	7,43	5,76	0,71	11,97	5,04	0,95	10,94
„ 100 „ „ . .	3,06	39,92	18,66	8,44	4,68	1,21	11,84	5,73	1,09	10,54
„ 110 „ „ . .	2,91	38,41	18,90	8,21	4,80	0,91	12,17	6,48	1,19	10,49
„ 120 „ „ . .	2,91	38,91	18,74	7,81	4,71	1,00	12,31	6,17	0,94	10,64
„ 130 „ „ . .	2,94	38,48	18,40	7,74	4,97	0,89	12,80	6,61	1,07	10,65

Bei Hyacinthus orientalis hat VAN ROJEN (1) bestimmt, wieviel Mineralstoffe in absoluter Menge von der Zwiebel von der Blütezeit an bis zur Entnahme aus dem Boden nach erlangter Reife aufgenommen werden. Es vermehrte sich die ursprünglich noch vorhandene Mineralstoffmenge in drei Versuchen um 281,5%, 178,02% und 67,7%.

In Versuchen, welche NATHANSOHN (2) an Querscheiben von Dahliaknollen unternahm, wurde durch Einlegen derselben in Salzlösungen von verschiedenen Konzentrationen untersucht, wie groß die Konzentration des in den Zellsaft aufgenommenen Salzes in bezug auf die Außenkonzentration war. In vielen Fällen war ein annähernd der Außenkonzentration proportionales Ansteigen und Fallen der Innenkonzentration sicher zu stellen. Meist wurde jedoch selbst in verdünnten, noch lange nicht plasmolytisch wirksamen Lösungen die Außenkonzentration nicht einmal annähernd erreicht. Aber auch dann wenn die vorher durch Einlegen in Salzlösung auf eine gewisse Zellsaftkonzentration gebrachten Präparate in verdünntere Lösungen kamen, stellte sich im Zellsaft die Außenkonzentration nicht wieder her. Es ist bisher nicht untersucht, inwiefern Änderungen der von NATHANSOHN entwickelten Anschauungen über die regulativen Eigenschaften der Plasmahaut durch die seither erzielten Fortschritte in der physikalischen Chemie nötig sind. U. a. wird aber auch kritische Sonderung der Anteile welche der Salzgehalt der Quellungsflüssigkeit der Zellmembranen u. a. an der von NATHANSOHN als „Zellsaftkonzentration" geführten Zusammensetzung des Knollenpreßsaftes nehmen, durchzuführen sein.

Vierundfünfzigstes Kapitel: Der Mineralstoffwechsel in den oberirdischen Achsenteilen.

§ 1.

Die Stammknospen und ihr Verhalten beim Austreiben.

Nur wenige Fälle sind hier eingehender studiert. SCHRÖDER (3) verdanken wir nähere Feststellungen über das Verhalten der Mineralstoffe beim Austreiben der Knospen von Acer platanoides. Die Aschen-

1) A. E. VAN ROJEN, Biedermanns Zentr. (1879), p. 360. — 2) A. NATHANSOHN, Jahrb. wiss. Botan., *39*, 607 (1904). — 3) J. SCHRÖDER, Suppl. Tharandter forstl. Jahrb. (1878), p. 173.

bestandteile, deren die jungen Triebe in ihrem Stoffwechsel und Wachstum benötigen, werden zum größten Teile aus dem Vorrate geschöpft, welcher in den Achsenorganen aufgespeichert liegt. Weder die Knospen selbst mit ihren eigenen aufgestapelten Materialien, noch die direkte Aufnahme der Mineralstoffe aus dem Boden durch die Wurzeln des Baumes können den notwendigen Bedarf decken. Am stärksten ist die Entnahme an Phosphorsäure aus den Achsenteilen, aber auch der Zustrom von Kali nach den Knospen ist ein erheblicher; weniger vermindert wird der Magnesiavorrat der Achsenorgane. In bezug auf die Mineralstoffe ist daher die Bedeutung der Knospen selbst als Reservestoffbehälter gewiß nicht groß. Ähnlich scheinen aber die Verhältnisse bei anderen Holzpflanzen zu liegen. Nach DESBARRES (1) enthalten junge entrindete Zweige von Rhus elegans im Winter und nach der Knospenentfaltung im Frühjahr:

	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Im Winter:	1,60 Asche,	4,56 darin P_2O_5;	22,76 K_2O;	42,62 Kalk
Im Frühjahr:	1,23 „	3,42 „ „	21,47 „	41,41 „

Die Sprossen japanischer Bambusarten enthalten nach KELLNER (2) 1,18 % Asche. Auch bei Bambusa wandern nach SHIBATAS (3) Feststellungen die Mineralstoffe rasch von den Rhizomen aus, und speziell Phosphorsäure und Magnesia ließen sich in den Procambialsträngen der wachsenden Spitzen direkt nachweisen. Magnesia soll hier in den Reservestoffbehältern, hauptsächlich in den Siebröhren, reichlich vorkommen.

Wiederholt war endlich das Zuckerrohr Gegenstand von Aschenanalysen. KNOP (4) fand in gesunden Sprossen 2,333 % Aschenbestandteile. Hiervon entfielen auf SiO_2 0,810, CaO 0,06, MgO 0,162, P_2O_5 0,070, SO_3 0,080, Cl 0,289, K_2O 0,861, Na_2O 0,001 % der Trockensubstanz. Über die von diesem Forscher für schizophyllumkrankes Zuckerrohr, sowie über die von STUTZER (5) für serehkrankes Zuckerrohr mitgeteilten Aschenanalysen läßt sich kaum eine sichere Meinung äußern, da die gefundenen Veränderungen: Steigen des Aschengehaltes resp. Verminderung von Schwefel und Kali schwer zu erklärende sekundäre Folgen tiefgreifender Stoffwechselstörungen darstellen. Daraus folgt, daß wenig Wahrscheinlichkeit besteht, etwa der Serehkrankheit durch eine passende Mineraldüngermischung beizukommen. SPRANKLING (6) hat für das Zuckerrohr festgestellt, daß die wachsenden oberen Teile der Sprosse reich an Phosphaten sind, während die aufgenommene Kieselsäure in die Blätter befördert und daselbst gespeichert wird. Der Gehalt des Zuckerrohrs an Kali und Natron verhält sich nach PRINSEN-GERLIGS und PELLET (7) etwa wie 7 : 100. PELLET (8) fand im Zuckerrohr ferner Titan in wechselnder Menge, kein Aluminium. Im Anschlusse an Befunde von SHIBATA darf man vielleicht annehmen, daß der Transport von Magnesiaverbindungen und Phosphorsäure zum großen Teile durch die Siebröhren vollzogen wird. Übrigens hat früher schon ZACHARIAS (9) im

1) DESBARRES, Biedermanns Zentr. Agr. Chem. (1879), p. 946. — 2) O. KELLNER, Jahresb. Agr. Chem. (1886), p. 357. — 3) K. SHIBATA, Journ. Coll. Sci. Tokyo, *13*, 329 (1900). — 4) KNOP, Landw. Vers.stat., *30*, 277 (1884). — 5) A. STUTZER, Ebenda, *40*, 325 (1892). — 6) SPRANKLING, Proc. Chem. Soc., *18*, 196 (1902). — 7) H. PELLET, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *22*, 1049 (1905). — 8) PELLET, Ebenda, p. 908. Zuckerrohr-Analysen ferner: J. HAZEWINKEL, Ann. Jard. Botan. Buitenzorg, 3. Suppl., II, 519 (1910). — 9) E. ZACHARIAS, Botan. Ztg. (1884), p. 65.

Siebröhreninhalte von Cucurbita Pepo Magnesia und Phosphorsäure nachgewiesen. Sphärite von phosphorsaurer Magnesia sah HANSEN (1) in Zuckerrohrstämmen nach Einlegen derselben in Alkohol in zahlreichen Parenchymzellen auftreten. Bei der Composite Hebeclinium (Eupatorium) macrophyllum sollen nach dem gleichen Verfahren Gipssphärite zu erhalten sein.

Auch die für Spargelsprosse (im Austreiben) bei WOLFF gegebenen Mineralstoffbestimmungen (2) lassen vermuten, daß sich die Vorgänge bei der Mineralstoffresorption von Knospen jenen von keimenden Samen usw. anreihen.

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
Asparagus: Maxim.	10,5	39,2	41,1	18,1	6,3	5,8	21,9	7,9	13,7	7,9
Mittel	7,26	24,04	17,08	10,85	4,32	3,38	18,57	6,18	10,09	5,93
Minim.	5,5	6,0	4,0	5,1	3,0	0,9	13,8	4,1	0,7	4,4
Betula, Frühjahrsknospen . .	4,0	23,56	·	21,42	11,2	0,75	28,14	8,97	0,77	2,53

In den Studien von ANDRÉ (3) über die Mineralstoffe der Knospen, Zweige und Blätter von Aesculus Hippocastanum findet man dargelegt, wie die Aschenstoffe des sich aus der Knospe entwickelnden Triebes sich stetig anreichern. Zwei Wochen vor dem Laubfall (8. Okt.) enthielten die Blätter 74,43 % der vom Zweig angesammelten Gesamtasche, 75,72 % der PO_4, 89,52 % der SO_3, 69,75 % des CaO, 77,63 % der MgO und 86,70 % des K_2O. Nach MANARESI und TONEGUTTI (4) sind beim Apfel- und Birnbaum die Fruchtzweige reicher an P_2O_5, die Blatttriebe reicher an Kieselsäure. Erwähnt seien ferner die Analysen von SHEDD und KASTLE (5) an Trieben von Vitis cordifolia. Der Sproß enthielt 79,25 % Wasser, 20,0437 % organische Stoffe, den Rest als Asche. In letzterer waren 0,4 % SiO_2, 0,03 % Fe_2O_3 und Al_2O_3 10,92 % CaO, 3,39 % MgO, 1,68 % Na_2O, 38,07 % K_2O, 12,52 % P_2O_5 und 2,24 % SO_3; der Rohaschegehalt war 1,02 %. Im Safte waren 99,634 % Wasser, 0,2782 % organische Stoffe und 0,113 % Rohasche. In der Asche: 0,405 % SiO_2, 0,54 % Fe_2O_3, 19,49 % CaO, 3,9 % MgO, 1,5 % Na_2O, 41,38 % K_2O, 5,09 % P_2O_5 und 4,59 % SO_3. Der Saft des Zuckerahorns enthält im sandartigen Satz nach SNELL und LOCHHEAD (6) viel Kalk, wenig Mn, Mg, PO_4 und Spuren von Fe_2O_3. In Zweigen von Manihot utilissima fand PECKOLT (7) 73,4 % Wasser und 3,45 % Asche, bei Manihot palmata M. A. 75,45 % Wasser und 3,182 % Asche.

Analysen ganzer Maispflanzen in verschiedenen Stadien der Entwicklung rühren von JONES und HUSTON (8) her. Dieselben ergaben ein scharfes Ansteigen des Kaligehaltes in der Periode der stärksten Entwicklung. Hinsichtlich der Abhängigkeit des anatomischen Baues des Roggenhalmes von der Mineraldüngung berichtet VAGELER (9), daß

1) A. HANSEN, Arbeit. Botan. Inst. Würzburg, *3*, 115 (1884). — 2) Spargel-Analysen b. RUBNER, Arch. f. Ann. u. Physiol., 1916, p. 151; Berl. klin. Woch.schr., *53*, 357 (1916). In Kopf 8,08 %, Stiel 4,9 %, im Preßsaft 63,0 % Asche. — 3) G. ANDRÉ, Compt. rend., *158*, 1517 (1914). — 4) A. MANARESI u. M. TONEGUTTI, Staz. Sper. Agr. Ital., *44*, 960 (1912). — 5) O. M. SHEDD u. J. H. KASTLE, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 1415 (1912). — 6) J. F. SNELL u. A. G. LOCHHEAD, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 301 (1914). Für Palmensaft: BACHILLI, Ann. di chim. appl., *3*, 101 (1915). BROWNING u. SYMONS, Journ. Soc. Chem. Ind., *35*, 1138 (1916). — 7) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *16*, 22 (1906). — 8) W. J. JONES jun. u. H. A. HUSTON, Purdue Univ. Agr. Ex. Sta. Bull., *175*, 599 (1914). — 9) P. VAGELER, Journ. f. Landw. (1906), p. 1.

Kaliumdarbietung die Entwicklung des Assimilationsparenchyms steigert, ohne daß die Festigkeit des Halmes leidet, auch ist die Cuticula verstärkt. Phosphorsäure hat günstigen Einfluß auf die Ausbildung des Stützgewebes, verringert aber die Gesamtzellhautmasse. Stickstoffdüngung im Übermaß, besonders in Kombination mit Kali, schwächt die Ausbildung des Zellhautgerüstes.

§ 2.

Die Mineralstoffe des Holzes der Bäume.

Das massiv entwickelte wasserleitende System der holzigen Achsen bildet ein bequem zugängliches Untersuchungsmaterial beim Studium der Physiologie der Mineralstoffe. Spezielles Interesse bieten die Aschenstoffe der holzigen Stammteile deswegen, weil sie die Leitungswege der durch die Wurzeln aufgenommenen Mineralstoffe einschließen. Schon ältere Untersucher, wie HJELM, BERTHIER, C. SPRENGEL u. a. (**1**) bemühten sich, genaue Aschenanalysen verschiedener Holzarten zu gewinnen; in neuerer Zeit wurde durch eine Anzahl trefflicher forstbotanischer Arbeiten das Wesentlichste über die Verteilung der Mineralstoffe im Holze der Bäume bereits festgestellt.

Der Totalgehalt an Aschenstoffen im gesamten Holzkörper ist in der Regel ein relativ kleiner, beträgt oft weniger als 1% der Trockensubstanz und geht relativ nicht häufig bis auf 3—4% der Trockensubstanz hinauf; auch in hochgradig „verkernten" Hölzern ist dieser Gehalt an Mineralstoffen nicht überschritten. Nach NYGARD (**2**) ist in Guajac-Holz 1,53%, in Wachholder-Holz 0,99%, in Quassia-Holz 4,8% Asche in der Trockensubstanz vorhanden. Das Minimum des Gesamtholzaschengehaltes dürfte bei 0,2% liegen. Beobachtungen von SCHROEDER (**3**) lehrten, daß man durch Auslaugen mit Wasser von den Aschenstoffen des Fichtenholzes einen erheblichen Teil entfernen kann; nicht ausgelaugtes Holz enthielt 0,232%, ausgelaugtes Holz 0,183% der Trockensubstanz an Aschenbestandteilen. Es ist aber der weitaus größere Teil demnach in Form wasserunlöslicher Verbindungen zugegen, wozu u. a. unlösliche Zellmembranstoffe und unlösliche Einlagerungen gehören. Anderweitige Untersuchungen über diese Frage sind allerdings noch nicht angestellt.

Es ist a priori zu erwarten, daß das lebhaft funktionierende Splintholz sich in bezug auf seine Aschenstoffe von den älteren Holzteilen desselben Stammquerschnittes merklich unterscheiden dürfte, was auch experimentell bestätigt wurde. Schon SPRENGEL gab an, daß das Kernholz aschenstoffärmer ist als das Splintholz. Dies ist in der Tat oft der Fall, wenn im Kernholze nicht massenhafte Kalkeinlagerungen vorhanden sind. Olea europaea enthält nach BECCHI (**4**) im Splint 5,04%, im Kernholze 1,42% Aschenstoffe. Bei Larix decidua fand WEBER (**5**) in zwei Analysen den Reinaschegehalt des Splintholzes zu 2,70% und 2,29% der Trockensubstanz,

---

1) J. HJELM, Crells Ann. (1784), I, 450; P. BERTHIER, Ann. Chim. et. Phys. (2), *32*, 240 (1826); C. SPRENGEL, Journ. prakt. Chem., *1*, 138 (1834); L. HOFFMANN, Lieb. Ann., *56*, 125 (1845); C. BISCHOF, Journ. prakt. Chem., *47*, 193 (1849); A. MÜLLER, Ebenda, p. 335. — **2**) A. NYGARD, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125. — **3**) J. SCHROEDER, Tharandter forstl. Jahrb., *24*, 55 (1874). Unlösliche Alkaliverbindungen in Eichenholz: BERTHELOT, Compt. rend., *142*, 313 (1906). — **4**) E. BECCHI, zit. bei WOLFF, Aschenanalys., *2*, 103. — **5**) R. WEBER, Allg. Forst- u. Jagdztg. (1873), p. 367; Forstl. Natwiss. Ztsch., *2*, 209 (1893).

während das Kernholz 1,77% und 0,98% Aschenstoffe aufwies. Bei Populus tremula fand hingegen v. BRANKE (1) die Differenzen im Aschengehalte von Splint und Kernholz nicht scharf ausgeprägt. Ein 50jähriger Quercusstamm, welchen WEBER (2) untersuchte, enthielt im Splintholze 0,5%, im Kernholze 0,22% der Trockensubstanz an Reinasche, während ein 345-jähriger Stamm die Werte 0,28% für Splint und 0,22% für Kernholz ergab. Für Fagus silvatica liegen differierende Angaben vor. WEBER (3) fand in einem 220jährigen Stamm im Splint 0,42%, im Kernholze 0,37% der Trockensubstanz an Reinasche. ZIMMERMANN (4) aber konstatierte bei der Untersuchung eines 94jährigen Rotbuchenstammes für die einzelnen konzentrischen Holzschichten an Aschengehalt:

Jahresring	1—15	15—25	25—35	35—45	45—60	60—83	83—94 (Splint)
Aschengehalt	1,162	0,825	0,645	0,612	0,555	0,458	0,205 %
$CaCO_3$-Gehalt	0,579	0,251	Spur	Spur			

Voraussichtlich liegt dies begründet in den verschieden stark entwickelten Kalkeinlagerungen des Kernholzes. Bei Betula alba dürften nach SCHROEDERS Analysen (5) ebenfalls Kalkeinlagerungen vorkommen. Hier ergab sich:

	an Rohasche	CaO	MgO
im Splintholze	0,22 %	0,066	0,018
„ Kernholze	0,40 %	0,149	0,036

Die Ablagerungen von Calciumcarbonat verursachen in anderen Fällen eine viel bedeutendere Steigerung des Aschengehaltes des Kernholzes gegenüber dem Splint. So fand MOLISCH (6) bei Ulmus campestris im Kernholze 2,2%, im Splint 1,34% Asche; bei Zygophyllum arboreum im Kernholze 3,65%, im Splint 1,21% Aschenbestandteile. ZIMMERMANN konstatierte für das Kernholz der Wurzel einer 102jährigen Ulmus effusa im innersten Kernholze sogar 8,862% Aschenstoffe, davon 6,651% $CaCO_3$, in den mittleren Holzlagen war 3,271% Reinasche mit 2,427% $CaCO_3$ vorhanden. Auch im Kernholze von Vitis vinifera ist nach den Analysen von KREMLA (7) im Kernholze der Aschenstoffgehalt infolge von Kalkablagerungen bedeutend höher als im Splinte; analog verhielt sich auch das Wundkernholz. Vielleicht gibt es aber auch Fälle, in welchen das Kernholz, ohne daß in demselben Kalkablagerungen reichlich zugegen sind, sich aschenstoffreicher erweist als der Splint und die bisherigen Befunde müssen nicht ausnahmslos gelten.

Der Aschenstoffgehalt des Holzes ändert sich auch mit der Region des Baumes und nimmt nach den Enden der Wasserbahnen hin zu. Im Gipfel der Bäume und in den Ästen ist das Holz durchschnittlich aschenstoffreicher als in den basalen Stammpartien. So enthielt in Untersuchungen von SCHÜTZE (8) Pinus silvestris im Wurzelstück 0,312%, im Stamme in Brusthöhe 0,334%, in der Stammitte 0,318%, im Gipfel 0,315%, im Astholze 1,224% Reinasche in der Trockensubstanz. Bei Picea excelsa fand SCHROEDER (9) im Stammholze 0,169%, im Gipfelstück 0,26%, in über

1) v. BRANKE, Just (1883), I, 58. — 2) WEBER (1876), zit. in WOLFF, Aschenanalysen, *2*, 78. — 3) R. WEBER, zit. bei WOLFF, l. c., p. 68. — 4) H. ZIMMERMANN, Ztsch. angew. Chem. (1893), p. 426. — 5) J. SCHROEDER (1865), zit. bei WOLFF, *1*, 122. — 6) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *84*, Juni 1881. — 7) H KREMLA, Jahresber. u. Progr. d. k. k. önol. u. pomol. Lehranstalt Klosterneuburg (1896). Vgl. auch NESSLER, Landw. Vers.stat., *14*, Nr. 2/3 (1873). — 8) W. SCHÜTZE, Allg. Forst. u. Jagdztg. (1876). *8*. 371. — 9) J. SCHROEDER, Tharandter forstl. Jahrb., *24*, 257 (1874).

1 cm starken Ästen 0,32% Aschenstoffe; bei Abies pectinata fand derselbe Autor (1) im Stamme 0,253%, im Gipfel 0,234%, im Astholze 0,303% Asche, und in Betula alba in den peripheren Lagen des Stammholzes 0,160% im Zweigholze 0,64% Reinasche in der Trockensubstanz (2). Dies hängt wahrscheinlich mit der nach dem distalen Ende des Holzkörpers zu relativ zunehmenden Splintholzquantität zusammen. In den drei letzten Zweigordnungen von Morus fand PIGORINI (3) den Aschengehalt mit 2,17%, 2% und 3,79%, den Wassergehalt 41,6%, 47,44% und 52,21%.

Mit der relativen Zunahme an nicht mehr funktionierenden Holzschichten während des Älterwerdens des Baumes hängt es wieder zusammen, wenn das Totalholz alter Bäume aschenstoffärmer wird als das Gesamtholz junger Stämme. So geben Zahlen von WITTSTEIN (4) an, für das Stammholz der Fichte mit 135 Jahren 0,33% Asche, mit 172 Jahren 0,46% Asche, mit 220 Jahren 0,38% Asche. WEBER (5) fand für den entrindeten Stamm von Fagus silvatica mit 10 Jahren 0,56%, mit 20 Jahren 0,46%, mit 40 Jahren 0,45%, mit 50 Jahren 0,36% Aschengehalt; für entrindete Eichenstämme von 15 Jahren 0,53%, von 25 Jahren 0,41% Reinasche im Holze.

Schwankungen des Aschenstoffgehaltes im Holze mit der Jahreszeit haben sich in einer Reihe von Untersuchungen ergeben. Zum Teile lassen sich dieselben wohl mit der verschiedenen Intensität des Wachstums im Holzzuwachse, auch mit dem verschieden starken Strome von gelösten Mineralsubstanzen, der sich durch den Holzkörper bewegt, in Verbindung bringen. Doch ist eine vollständige Erklärung der Erscheinung nach dem heutigen Stande der Forschung noch kaum möglich. Zur Zeit lebhafter Vegetationstätigkeit wurde der Aschengehalt des Holzes oft merklich höher gefunden. So enthielt in (älteren) Analysen von STAFFEL (6) das junge Holz von Aesculus am 6. Mai 10,91% Reinasche, am 1. September 3,38%; Juglans regia im jungen Holze am 31. Mai 10,03%, am 27. August 2,99% Reinasche. DITTMANN (7) fand wieder im entrindeten Rotbuchenstamme am

30. Jan.	31. März	29. April	29. Mai	28. Juni	24. Sept.	22. Nov.	
Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
0,503	0,467	0,466	0,411	0,383	0,475	0,452	an Asche.

Auch für die Eiche fand DITTMANN nur kleine Schwankungen:

1. I.	31. III.	29. IV.	29. V.	28. VI.	27. VII.	26. VIII.	24. IX.	24. X.	22. XI.	21. XII.
Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
0,489	0,509	0,518	0,477	0,455	0,450	0,512	0,473	0,524	0,475	0,482

aus denen man kaum irgend eine Folgerung ziehen kann. Doch treten Steigerungen des Holzaschengehaltes im Frühling auch in Analysen von SCHROEDER (8) hervor. Für Picea excelsa ergab sich

	im April Proz.	August Proz.	November Proz.	Februar Proz.	
Außenholz	0.226	0,229	0,252	0,199	Asche
Innenholz	0,201	0,224	0,236	0,189	„
Gesamtholz	0,213	0.223	0,243	0,194	„
Wassergehalt des frischen Holzes	43,55	39,84	41,29	39,51	

1) SCHROEDER, Forstchem. und pflanz.physiol. Unters., Heft 1 (1878). — 2) SCHROEDER, zit. in WOLFF, I, 122. — 3) PIGORINI, Arch. farm. sper., *23*, 187 (1917). — 4) WITTSTEIN, Hennebergs Journ. Landw. (1855). — 5) R. WEBER, Forstl. Blätter v. GRUNERT (1876), p. 257. — 6) STAFFEL, Liebig-Kopps Jahresb. Chem. (1850), Tab. D. — 7) G. DITTMANN, b. WOLFF, l. c., *2*. 71. — 8) J. SCHROEDER, Tharandter forstl. Jahrb., *24*, 177 (1874); Forstchem. u. pflanz.phys. Unters., Heft 1 (1878).

Bei Acer platanoides enthielt das Stammholz am 5. April 0,407%, am 18. Mai 0,292% Aschenstoffe. Bei Populus tremula fand v. BRANKE am meisten Aschenstoffe im Winterholze, im Sommer erfolgte eine Verminderung, im Herbste trat im Splint bereits wieder Vermehrung des Aschengehaltes ein; im Kernholze war dieser Übergang unbestimmt. Nach diesen Angaben würden hier die Aschenstoffe der Reservematerialien (K, PO_4, Mg) für die gesamten Mengenverhältnisse entscheiden. Natürlich ist in diesen und anderen Fällen auch die Translokation der in den holzigen Achsen gespeicherten Reservematerialien mit ihren Aschenstoffen mit zu berücksichtigen.

Die Bewegung der einzelnen Aschenstoffe während des jährlichen Vegetationsganges von Fraxinus excelsior wird durch nachstehende Analysentabelle von RAMANN und GOSSNER (1) veranschaulicht.

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Mn_3O_4	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	Cl	SiO_2	N
Oktober .	7,49	0,31	9,24	2,25	0,27	1,13	2,64	1,14	0,20	6,47	9,18
Dezember	7,48	0,57	7,66	1,97	0,13	1,98	3,15	0,79	0,19	2,76	8,73
April . .	8,96	0,58	8,09	2,02	0,06	0,57	1,50	0,51	0,21	1,79	8,74
Juni . .	6,06	0,79	6,88	1,66	0,08	0,67	2,19	0,64	0,18	2,54	4,00

Die Fortsetzung dieses Versuches durch BAUER (2) ergab, daß bis 21. Mai Stamm und Wurzel 46% des in den Blättern vorhandenen K_2O geliefert hatten und 54% aus dem Boden neu aufgenommen war; von CaO stammten 86% aus dem Boden, vom MgO und N 40%. Am 9. Juli ergab sich eine sehr starke Ca- und Si-Aufnahme durch die Blätter, sie enthielten nun mehr Ca als K. Bis 17. September ging K und N noch weiter zurück und Ca und Si stiegen. Wie verschieden sich selbst die naheverwandten einheimischen Coniferen hinsichtlich der Mineralstoffaufnahme verhalten, geht aus der nachfolgenden Zusammenstellung von RAMANN und BAUER (3) hervor:

Aufnahme		Febr. bis Mitte Mai	Mitte Mai bis Mitte Juli	Mitte Juli bis Mitte Sept.	Mitte Sept. bis Ende Nov.
Larix decidua	K_2O	schwach	schwach	sehr stark	keine
	CaO	mäßig	mäßig	sehr stark	keine
	MgO	gleichmäßig bis zum September			keine
	PO_4	keine	schwach	schwach	sehr stark
Pinus silvestris	K_2O	keine	mäßig	stark	keine
	CaO	keine	keine	mäßig	mäßig
	MgO	keine	schwach	mäßig	mäßig
	PO_4	keine	schwach	stark	keine
Picea excelsa	K_2O	schwach	stark	mäßig	mäßig
	CaO	mäßig	stark	sehr stark	keine
	MgO	keine	mäßig	mäßig	keine
	PO_4	keine	mäßig	mäßig	keine
Abies pectinata	K_2O	stark	keine	mäßig	mäßig
	CaO	gleichmäßig bis zum November			
	MgO	keine	schwach	mäßig	mäßig
	PO_4	mäßig	mäßig	keine	keine

KÜBLERS Versuche (4) an 2jährigen Pflanzen von Fagus silvatica lehrten gleichfalls, daß erst von Mitte Juli an die Mineralstoffe des Bodens

1) E. RAMANN u. B. GOSSNER, Landw. Vers.stat., *76*, 117 (1911). — 2) H. BAUER, Naturw. Ztsch. Forst- u. Landw. (1911), p. 409. — 3) E. RAMANN u. H. BAUER, Jahrb. wiss. Botan., *50*, 67 (1911). — 4) W. KÜBLER, Naturw. Ztsch. Forst- u. Landw. *10*, 161 (1912).

erheblich ausgenutzt werden und früher sich erst die Reservevorräte des Stammes erschöpfen; Ca und Mg stehen hierbei in vicariierendem Verhältnis.

Was die Rolle von Ca, Mg, PO_4 im Cambium anbelangt, so erfuhr SIEBER (1), daß während der Knospenbildung der Kalk sehr abnimmt, dabei der Aschengehalt, wahrscheinlich durch Kalivermehrung, steigt. Während der Assimilationszeit steigt Ca wieder an und kann sich im Laufe des Sommers verdoppeln. Der Mg-Gehalt ist unabhängig von der Gesamtasche, doch proportional der Trockensubstanz; Beziehungen zum Ca-Gehalt sind nur in geringem Maße, die Relation zur PO_4 deutlich ausgeprägt.

Der Kaligehalt der Holzasche schwankt je nach der Pflanzenart innerhalb sehr weiter Grenzen. Dabei spielt natürlich der relative Gehalt an Kalk und deren Mineralstoffen eine wichtige Rolle. Kalireiches Holz besitzen Abies pectinata (bis 44,62%), Juglans nigra (bis 39%), Rubus fruticosus (29%), Quercus (39%), Fagus silvatica (bis 38% der Reinasche). Werte zwischen 10—20% werden aber viel häufiger gefunden, auch weniger als 10%; Werte von weniger als 5% K_2O in der Reinasche werden wiederum selten gefunden.

Nach den Feststellungen von SCHROEDER an Fichtenholz ist hier fast ¾ des Gesamtkali durch Wasser aus dem Holze extrahierbar, findet sich also in Form von wasserlöslichen anorganischen und organischen Verbindungen. Weitere Erfahrungen müssen erst zeigen, ob dieses Verhältnis allgemeiner zutrifft.

Das Splintholz pflegt in seiner Asche meist mehr Kali zu enthalten als das ältere Holz, doch fehlt es diesbezüglich nicht an Ausnahmen. Als Zahlenbeispiele mögen dienen:

	Kaligehalt in Splint	in Kernholz	
bei Larix	28,17	12,49 %	der Reinasche
Olea europaea . .	13,0	20,94 %	,, ,,
Betula alba . . .	20,78	10,11 %	,, ,,
Fagus silvatica . .	24,42	26,83 %	,, ,,
Quercus 50 Jahre	36,66	26,17 %	,, ,,
,, 345 ,,	32,41	48,02 %	,, ,,

und so gab auch DAUBE (2) an, daß das Kernholz von Lärche, Kiefer, Eiche, Buche und Fichte ärmer an Kali sei als der Splint, während WEBER (3) im Gegensatz hierzu bei der Rotbuche eine starke Zunahme des Kaligehaltes im Holze vom Splint gegen den Kern zu konstatierte. Worauf die Kaliansammlung im Kernholze beruht, ist noch nicht sichergestellt. Bei Larix fand aber auch WEBER (4) im Splint mehr Kali als in dem Kernholze: Kernholz 0,210% und 0,123%, Splintholz 0,707% und 0,645% K_2O in der Reinasche; hier ist übrigens auch der Kalkgehalt im Kernholze nicht relativ so groß, als daß die Differenz im Kaligehalte auf diesen Faktor zurückgeführt werden könnte. Bei Buchen, die reichlich Samen produzieren, fand WEBER (5) den Splint besonders reich an Kali und Mg, während der PO_4-Gehalt sich gegen spärlich fruktifizierende Bäume nur wenig unterschied.

Einer Klärung bedarf auch noch die Differenz im Kaligehalte des Holzes aus verschiedenen Regionen des Baumes. Bei Abies pectinata fand

---

1) F. W. SIEBER, Verhandl. phys.-med. Ges. Würzburg, *41*, 11 (1912). — 2) W. DAUBE, Forstl. Blätt., *7*, 177 (1883). Vgl. auch RAMANN, Ztsch. Forst- u. Jagdwes. (1883), p. 1. — 3) WEBER, Botan. Zentr., *32*, 314 (1887). — 4) R. WEBER, Forstl. nat.wiss. Ztg., *2*, 209 (1893). — 5) WEBER, Ebenda, *1*, 13 (1893).

SCHROEDER im Stammholze am meisten K_2O (44,62% der Reinasche) im Gipfelholze 35,12%, im Holze älterer Äste 28,91%. Bei Picea excelsa waren erhebliche Differenzen überhaupt nicht zu konstatieren. Hingegen fand SCHÜTZE (1) bei Pinus silvestris im Wurzelstück 17,34%, im Stamm in Brusthöhe 12,31%, in der Stammitte 12,03%, im Gipfel 16,08%, im Astholze 25,71% der Holzasche an K_2O; hier tritt eine Steigerung des Kaligehaltes nach den jungen Teilen des Holzes zu deutlich hervor. Dasselbe ist übrigens auch der Fall in älteren bei WOLFF (l. c., Bd. I, p. 122) mitgeteilten Analysen des Birkenholzes von MALAGUTI-DUROCHER und BERTHIER.

Die von STAFFEL, SCHROEDER und anderen Autoren beobachtete Vermehrung des Kaligehaltes des Holzes im Frühjahr kann mit der Lösung der Reservestoffe und deren Translokation in Zusammenhang gebracht werden. So enthielt das Holz von Aesculus am 6. Mai 64,19%, am 1. September 19,42% der Reinasche an Kali, Juglans am 31. Mai 42,74%, am 27. August 15,29% Kali; Acer platanoides am 5. April 30,46%, am 18. Mai 19,91% in der Holzasche. In den von DITTMANN für Eiche und Rotbuche mitgeteilten Zahlen sind hingegen die Schwankungen (vielleicht durch Kompensation mehrerer Umstände) sehr gering. Wie SCHROEDER zeigte, ist die Kalizunahme im Splint im Frühjahr größer als die Zunahme im Innenholze. Fichtenholz enthielt in

	April	August	November	Februar	
Außenholz	23,36	17,81	21,22	22,12 %	K_2O in der Reinasche
Innenholz	18,25	17,27	15,25	18,20 %	,, ,, ,, ,,

Das sommerliche Minimum des Kaligehaltes in der Holzasche fand VON BRANKE auch bei Populus tremula wieder.

Der Natrongehalt der Holzasche ist meist wohl recht gering: ½ bis 2%. Er steigt bei Prunus avium bis auf 10,13%, Ulmus campestris 13,72%, Sorbus Aria 15,93% (2), bei Prosopis Algarobilla bis 12,45%, Machaerium fertile 11,26% [SIEWERT (3)]; Holz von Pinus montana ergab in einer Analyse von WITTSTEIN (1850) (4) sogar 24,46% Na_2O in der Asche; hingegen fand SIEWERT in der Asche des Holzes von Tectona grandis nur 0,04% Na_2O. Die bezüglich des Kaligehaltes im Holze festgestellten Schwankungen in der Quantität ließen sich für Natron nicht eruieren. Kernholz scheint meist weniger Natron zu führen als Splintholz. In SCHROEDERS Auslaugungsversuchen enthielt Fichtenholz vor der Extraktion mit Wasser 1,67% Na_2O, ausgelaugtes Holz 2,74%; im Extrakte waren nur 4,12% des veraschten Rückstandes an Natron zugegen; es scheint also ein erheblicher Teil des Natrongehaltes mit Wasser nicht extrahierbar zu sein. Die individuellen Schwankungen des Natrongehaltes der Holzasche sind übrigens sehr groß.

Kalk prävaliert meist unter den Aschenbestandteilen des Holzes und macht sehr häufig über ¾ des gesamten Holzaschengewichtes aus, indem oft 60—78% CaO in der Reinasche von Holz gefunden werden. Die meisten Hölzer sind entschieden kalkreich zu nennen, doch gibt es auch beträchtlich kalkärmere Holzarten. Zu den kalkreichen Holzpflanzen gehören (nach WOLFFS Zusammenstellungen):

---

1) W. SCHÜTZE, Ztsch. Forst- u. Jagdwes., *8*, 371 (1876). — 2) Nach älteren Analysen mitgeteilt von WOLFF, *1*, 129. — 3) M. SIEWERT, in WOLFF, *2*, 105. — 4) Vgl. WOLFF, *1*, 126.

Tilia grandifolia . . .	75,92 %	CaO in der Reinasche
Robinia Pseudacacia .	58,30 %	„ „ „ „
Citrus Aurantium . .	68,88 %	„ „ „ „
Sorbus aucuparia . .	76,13 %	„ „ „ „
Fraxinus excelsior . .	62,14 %	„ „ „ „
Populus tremula . . .	66,5 %	„ „ „ „
Ulmus campestris . .	77,31 %	„ „ „ „
Fagus silvatica	60,25 %	„ „ „ „
Quercus pedunculata .	76,27 %	„ „ „ „
Caesalpinia Sappan . .	77,77 %	„ „ „ „

Kalkarmes Holz besitzen:

Rubus fruticosus . .	29,57 %	CaO
Abies pectinata . . .	10,17 %	„
Tectona grandis . .	31,35 %	„
Machaerium fertile .	22,13 %	„
Picea excelsa	29,41 %	„

Über die Quantitätsschwankungen, welche der Kalkgehalt im Holze derselben Pflanzenart zeigen kann, geben nachstehende, ebenfalls dem Werke von WOLFF entnommene Beispiele Aufschluß.

Fagus silvatica: 10—20jähr. Stammholz ohne Rinde	26,3—33,5 %	CaO in der Reinasche
„ „ 50—90jähr. Scheitholz	36,2—49,5 %	
Quercus pedunculata: 15—25jähr. Stammholz ohne Rinde	19,0—27,6 %	
Betula alba: Holz ohne Rinde	19,5—45,8 %	
Pinus silvestris: Scheitholz	41,5—62,1 %	
Larix decidua: Stammholz ohne Rinde	33,7—61,9 %	
Picea excelsa: „ „ „	26,3—39,8 %	

Ein vikariierendes Verhältnis des Gehaltes an Kalk zum Gehalte des Holzes an Kieselsäure ergab sich nur in einzelnen Fällen, auf welche noch zurückzukommen sein wird. Als wichtiger Membranstoff („Gerüstsubstanz") und als ein Stoff, welcher bei der „Verkernung" des Holzes hervorragend beteiligt ist, findet sich Kalk meist weitaus reichlicher im älteren Holze als im Splint. Nach Daten der WOLFFschen Zusammenstellungen enthalten:

bei	I Larix	II Betula	III Fagus 220 ann.	IV Quercus 345 ann.	V 50 ann.	
Kernholz	49,27	49,82	42,55	23,78	36,89 %	CaO
Splintholz	39,09	41,11	34,67	25,12	26,40 %	„

So wie der sub IV angeführte Fall von Quercus, ergab auch eine von WEBER für Larix angestellte Analyse, daß in selteneren Vorkommnissen der Splint sogar etwas kalkreicher sein kann als die alten Holzschichten.

Die Untersuchungen von MOLISCH (1) über das Holz der Ebenaceen und über die Ablagerung von Calciumcarbonat im Stamme dicotyler Holzgewächse haben auf die weitverbreitete Erscheinung aufmerksam gemacht, daß im Kernholze und im Wundholze vieler holziger Dicotyledonen die

1) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *80* (1879); *83* (1881); Botan. Zentr. (1881), I, 425. Vgl. auch KOHL, Kalksalze u. Kieselsäure (1889), p. 113; P. MELNIKOFF, Dissert. Bonn (1877).

Gefäße mit dichten Füllmassen von kohlensaurem Kalk erfüllt sind, welche im Querschnitte oft sphäritartige Struktur zeigen. Solches krystallinisches Calciumcarbonat findet sich aber auch in Tracheiden, Holzfasern und Parenchymzellen des Kernholzes. Zunächst bildet sich die Verkalkung als dünne Schicht an der Zellwand aus, bis sie als solide Thrombose das Zelllumen völlig verlegt.

Hart (1) fand in Rissen und Sprüngen des Stammes von Hieronyma alchorneoides Ablagerungen, welche zu 86% aus kohlensaurem Kalk bestanden. Daß die im Holze vorkommenden Kalkverbindungen wasserunlöslich sind, geht auch aus den Auslaugungsversuchen von Schroeder hervor; nicht ausgelaugtes Fichtenholz enthielt 32,06%, ausgelaugtes Holz 38,35%, der Rückstand des Wasserextraktes aber 5,63% seiner Asche an CaO. Die Beobachtungen über den Kalkgehalt des Holzes in verschiedener Höhe des Baumes entsprechen meist dem verschiedenen Alter und der ungleichen Verkernung des Holzes. So ergab sich für:

	Wurzelstück	Stamm in Brusthöhe	Stammitte	Gipfel	Astholz
Pinus silvestris	36,38 %	54,96 %	59,48 %	52,62 %	26,17 % CaO

Ferner für

	Stammholz	Gipfel	Astholz
Picea excelsa	39,82 %	34,43 %	38,73 % CaO in der Reinasche
Abies pectinata	10,17 %	12,10 %	13,52 % „ „ „ „

doch fehlt es, wie der Fall von Abies zeigt, auch an entgegengesetzten Befunden nicht, welche noch schwer zu deuten sind.

Von analytischen Ergebnissen über den Kalkgehalt des Holzes verschieden alter Bäume seien nachstehende angeführt:

	10	15	20	25	40	50	135	172	345 Jahre alt
Fagus silvatica, entrindeter Stamm .	27,49	·	28,37	·	27,35	27,50	·	·	% CaO
Quercus	·	27,58	·	24,51	·	36,89	·	·	23,78 % „
Picea excelsa . .							46,49	47,84	29,41 % „

Danach scheint sich bei der Gesamtholzanalyse der Kalkgehalt kaum in bestimmter Richtung mit dem Alter des Baumes zu verändern.

Bei den bereits zitierten Untersuchungen über die Aschenstoffe des Holzes zu verschiedenen Jahreszeiten (Staffel, Schroeder, Dittmann) ergab sich mehrfach in Verbindung mit dem Anschwellen des Gehaltes des Holzes an anderen Aschenbestandteilen zur Zeit der lebhaften Stofftranslokation im Frühling eine Senkung des relativen Kalkgehaltes, doch war in den von Dittmann untersuchten Rotbuchen- und Eichenstämmen dieses Verhältnis nur schwach oder gar nicht ausgeprägt. In den Analysen Schroeders von Fichtenholz tritt die Senkung des Kalkgehaltes im August hervor, stärker im Außenholze als im Innenholze:

	April	August	November	Februar
Außenholz	32,62	24,31	32,04	32,66 % CaO
Innenholz	34,23	28,26	39,24	34,14 % „

vielleicht spielt hierbei die Neubildung zahlreicher noch kalkarmer Zellmembranen im Holze eine Rolle.

1) Hart, Ann. of Botan., *1*, 361 (1887).

Der Gehalt der Holzasche an Magnesia beträgt in der Regel 5—10% oder etwas mehr. Höhere Werte führt WOLFF an für das Holz von Rubus „fruticosus" (15,81%), Betula (bis 18%), auch bei der Eiche wurden Zahlen von 15—23% MgO gefunden, bei Larix bis 24,51%. Nach COUNCLER (1) enthält aber Lärchenstammholz immer 11% MgO, Abies pectinata und Picea excelsa immer weit unter 10% MgO (6,53 und 6,41%). Im allgemeinen sind abnorm hohe und tiefe Werte für Mg nicht häufig. Unter 1% Mg enthält die Asche des Holzes selten: Fagara Coco (0,37%), Acacia Cebil (0,94%).

Der Magnesiagehalt von Splintholz und Kernholz weist kaum ausgesprochene Differenzen in konstanter Richtung auf. Es wurde gefunden in

	Larix	Betula	Fagus 220 ann.	Quercus 50 ann.	id. 345 ann.	
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
Kernholz	13,40	11,98	19,50	5,57	2,35	MgO in der Reinasche
Splint	7,99	11,10	20,10	7,65	5,62	„ „ „ „

Doch fand WEBER auch in zwei Analysen von Lärchenholz den Splint Mg reicher als das Kernholz (0,202 und 0,132% im Kernholze, 0,293 und 0,182% im Splint). In einer Anzahl von Bestimmungen ergab sich schwach ausgesprochener Mehrgehalt an Magnesia im Holze des Gipfelteiles und der Äste gegenüber den unteren Stammpartien des Baumes:

	Stamm	Gipfel	Astholz	
Fichte	9,35%	9,84%	11,39%	MgO in der Reinasche
Tanne	8,84%	9,26%	9,41%	„ „ „ „ (SCHROEDER).

Bei den durch SCHÜTZE an Holz von Pinus silvestris ermittelten Zahlen tritt jedoch dieses Verhältnis nicht zutage. Deshalb läßt es sich auch nicht angeben, ob in den anderen Fällen Mehrgehalt an Eiweiß und Protoplasma in den oberen Teilen des Holzkörpers das Plus an MgO bedingt oder nicht. Bei der Analyse des Gesamtholzes verschieden alter Bäume ergab sich ebenfalls keine in konstanter Richtung verlaufende Veränderlichkeit des Magnesiagehaltes. Bei Fagus wurde ein Ansteigen des MgO-Gehaltes mit dem Alter des Holzkörpers beobachtet, bei Quercus und Picea aber ein Fallen.

Fagus silvatica		Proz.		Quercus pedunculata		Proz.		Picea excelsa		Proz.	
10	Jahre	12,40	MgO	15	Jahre	13,40	MgO	135	Jahre	8,82	MgO
20	„	11,95	„	25	„	11,60	„	172	„	4,65	„
40	„	14,54	„	50	„	5,57	„	220	„	6,30	„
50	„	13,36	„	345	„	2,35	„				
220	„	19,50	„								

In den mehrfach erwähnten Aschenanalysen des Holzes einer Baumart zu verschiedenen Jahreszeiten finden sich meist Hindeutungen, daß zur Zeit lebhafter Stoffbewegung im Holzkörper im Frühjahr eine Steigerung des Magnesiagehaltes gefunden wird. Dies ist auch aus den von DITTMANN mitgeteilten Zahlen für Eichenholz zu ersehen, wo wenigstens ein schwaches Maximum Ende Mai gefunden wurde; bei Fagus trat aber dieses Verhältnis nicht hervor. Nach SCHROEDERS Erfahrungen partizipiert in

1) G. COUNCLER, Just (1886), I, 161.

erster Linie die äußere Partie des Holzkörpers an dieser MgO-Vermehrung. Bei Picea excelsa ergab sich

	April	August	November	Februar	
in Außenholz	10,44	7,89	9,37	9,47 %	MgO in der Reinasche
„ Innenholz	13,07	14,94	12,77	13,40 %	„ „ „ „

Durch Extraktion mit Wasser konnte SCHROEDER dem Fichtenholze nur sehr wenig Magnesiumverbindungen entziehen. Die Asche nicht ausgelaugten Holzes ergab 13,38% MgO, jene des ausgelaugten Holzes 15,89% MgO, die Asche des Extraktrückstandes enthielt nur 2,98% MgO. Diese Versuche würden passend erweitert und zu verschiedenen Vegetationsstadien an vergleichbarem Material angestellt noch ein zutreffenderes Bild von der physiologischen Rolle der Magnesiumverbindungen im Holzkörper abgeben können.

Der Eisengehalt des Holzkörpers übersteigt in zahlreichen Fällen nicht die Grenzen, welche der Eisengehalt jugendlicher Pflanzengewebe erreicht und bewegt sich zwischen 0,5 und 0,8% der Reinasche. Doch geht er andererseits nicht selten bis auf mehrere Prozente der Reinasche hinauf: Olea europaea 2,11%; Citrus Aurantium 3,08%; Acacia Cebil 5,1%; Aspidosperma Quebracho 2,41%; Jodina rhombifolia 2,45%; Tecoma radicans 2,48%; Cedrela brasiliensis 5,57%; Buxus 3,82%; Populus virginiana 4,47%; Sorbus aucuparia 3,24% Fe_2O_3. In einem Falle wurde in Fichtenholz sogar 10,07% Fe_2O_3 in der Reinasche angegeben (WOLFF, l. c.). Wasserlöslich ist nur ein geringer Teil des im Holze vorhandenen Eisens. SCHROEDER fand in nicht ausgelaugtem Fichtenholze 6,33%, in ausgelaugtem Holze 7,38%, im Wasserextrakte nur 2,38% der Asche an Eisenhydroxyd. Das Kernholz kann anscheinend entweder eisenreicher oder auch eisenärmer sein als das Jungholz. Als Zahlenbeispiele seien angeführt:

	Larix	Betula	Fagus	Quercus 50 ann.	id. 345 ann.	
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
Kernholz	4,78	1,26	1,13	1,63	1,69	Fe_2O_3 in der Reinasche
Splint	4,15	1,43	2,11	1,42	2,30	„ „ „ „

Über den Eisengehalt des Holzes aus verschiedenen Teilen der Bäume geben nachstehende Daten Aufschluß:

	Stamm	Gipfel	Astholz	
Fichte	0,79 %	1,22 %	0,96 %	Fe_2O_3 in der Reinasche
Tanne	0,81 %	0,65 %	1,05 %	„ „ „ „

Fichtenholz, von SCHROEDER zu verschiedenen Jahreszeiten analysiert, ergab:

	April	August	November	Februar	
in Außenholz	0,72 %	1,42 %	0,36 %	1,62 %	Fe_2O_3 in der Reinasche
„ Innenholz	0,51 %	1,10 %	0,70 %	0,10 %	„ „ „ „

Bestimmte Schlüsse lassen sich aus alledem nicht ableiten. Über Eisengehalt des Holzes sind endlich Angaben von MOLISCH (1) zu vergleichen

1) H. MOLISCH, Die Pflanze u. d. Eisen (1892), p. 48.

Häufig zu findende, aber nicht regelmäßig vorkommende Bestandteile der Holzasche sind Tonerde und Mangan. Beide machen meist nur bis 0,5—0,9% der Reinasche aus. Viel Tonerde ist in dem sehr aschenreichen Holze von Robinia Pseudacacia vorhanden, jedoch nicht regelmäßig (RAMANN und WILL (1). Nach H. G. SMITH (2) ist die australische Proteacee Orites excelsa dadurch merkwürdig, daß im Stamm viel basisches Aluminiumsuccinat abgelagert ist; die Holzasche enthält nicht weniger als 79,61% Al_2O_3. In Grevillea wurde keine Tonerde gefunden.

WEBER (3) fand im Eichenholz bis über 3% Mn_3O_4 und 2,29% Al_2O_3 in der Reinasche; nach DITTMANN (4) erreicht der Mangangehalt bis 5,2%. In Buchenholz fand DITTMANN 4,85—7,74% Mn_3O_4, neben 0,1—1,45% Eisenhydroxyd. Sehr manganreich erwies sich in Analysen von SCHROEDER (5) Birkenholz mit 10—18,36% Mn_3O_4, weitaus mehr als das gleichzeitig vorhandene Eisen. Aber auch bei solchen Hölzern kommt in anderen Fällen sehr niedriger Mangangehalt vor. DITTMANN fand das Stammholz der Birke viel eisen- und manganreicher als das Astholz. Vom gesamten Eisengehalt des Baumes entfallen 23,3%, vom gesamten Mangangehalt 38,8% auf das Stammholz und etwa ebensoviel auf die Stammrinde. Nach SCHROEDER (6) ist das Fichtenholz sehr manganreich und lieferte in dem untersuchten Falle 22,47% der Reinasche an Manganoxyduloxyd; auch hier beherbergt das Stammholz den größten Teil der Manganmenge. In Abies pectinata-Stammholz fand SCHROEDER jedoch die höchsten Werte für Mn_3O_4: bis über 40% der Reinasche.

GUÉRIN (7) gibt an, daß man durch Extraktion von Holzmehl mit verdünnter Alkalilauge und. durch schwaches Ansäuern des erhaltenen Extraktes eine manganreiche Fällung eines nucleinartigen Stoffes erhält, und glaubt, daß im Holze manganhaltige Nucleinsäuren anwesend sein dürften. Weitere Untersuchungen hierüber liegen nicht vor. FORCHHAMMER (8) fand im Eichenholze Kobalt und Nickel, und ferner in einigen Holzarten Zinn. Einen sehr auffallenden Befund verzeichnet FRANKFORTER (9): das Vorkommen von Körnchen fast reinen metallischen Kupfers in den 5—6 letzten Jahresringen des Stammes einer amerikanischen Eichenart!

Phosphorsäure ist im Holze stets in geringerer oder größerer Menge zugegen. Die quantitativen Werte fallen sehr verschieden hoch aus. Häufig ist nur 3—4% der Reinasche an P_2O_5 zugegen, in vielen Fällen zwischen 5 und 10%. Eine Reihe von Befunden weist aber viel höhere Zahlen für den Phosphorsäuregehalt der Holzasche auf. Teils beruhen diese Schwankungen unstreitig auf reichlicher Gegenwart von Reserveproteiden und von löslichen organischen und anorganischen Phosphorverbindungen, teils werden sie aber auf ganz anderem Wege zustande gebracht. So konnte THOMS (10) für das Teakholz (Tectona grandis) zeigen, daß die Zellen des Holzkörpers allenthalben Konkretionen aus phosphorsaurem Kalk führen, so daß der Gehalt der Reinasche dieses Holzes an Phosphorsäure bis 29,61%, an Kalk bis 31,35% hinaufgeht. THOMS nimmt an, daß diese Ablagerungen aus

---

1) E. RAMANN u. H. WILL, Ztsch. Forst- u. Jagdwesen (1883), p. 91 u. 244. — 2) H. G. SMITH, Proc. Roy. Soc. N. Sth Wales (1903). — 3) R. WEBER, Forstl. Blätter (1876), p. 257. — 4) DITTMANN, zit. bei WOLFF, l. c., *2*, 72. — 5) J. SCHROEDER, Forstchem. u. pflanz.phys. Unt., *1* (1878). — 6) SCHROEDER, Tharandter forstl. Jahrb., *24*, 257 (1874); auch SERTZ, Mitteil. kgl. sächs. forstl. Versuchsanstalt Tharandt, I, 4 (1917). — 7) G. GUÉRIN, Compt. rend., *125*, 311 (1897). — 8) FORCHHAMMER, Lieb. Ann., *95*, 86 (1855). — 9) G. B. FRANKFORTER, Chem. News, *79*, 44 (1899). — 10) G. THOMS, Landw. Versuch.stat., *23*, 413 (1879); ferner WICHMANN, Kgl. Ak. Wet. Amsterdam, Afd., *27*, 593 (1919).

löslichem Kalkphosphat, welches dem Boden entstammt, gebildet werden, doch ist die Entstehung dieser Phosphatablagerungen bisher kaum genügend sicher erklärt worden. Weitere hohe Phosphorsäurewerte wurden angegeben für die Asche des Holzes der Eiche (bis 22%), Acer platanoides (20,5%), Machaerium fertile (20,66%), Sapium aucuparium (19,47%), Rubus Idaeus (23,61%), Populus alba (15,2%), Rosa canina (16,10%) und andere Fälle.

Aus Fichtenholz ist nach SCHROEDERs Befunden weitaus der größte Teil der Phosphorsäure mit Wasser nicht extrahierbar. Nicht ausgelaugtes Holz enthielt in der Asche 1,30%, ausgelaugtes Holz 1,09% Phosphorsäure und die Asche des Extraktrückstandes wies nur 1,41% Phosphorsäuregehalt auf. In diesem wie in anderen Fällen bleibt noch sicherzustellen, in welchen Formen die Phosphorsäure hauptsächlich zugegen ist.

Das Splintholz zeigt meist ausgesprochenen Reichtum an Phosphorsäure gegenüber dem Kernholze:

	Larix	Betula	Fagus 220 ann.	Quercus 50 ann.	id. 345 ann.	
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	
Kernholz	3,71	16,59	4,54	5,88	2,57	P_2O_5
Splint	12,03	11,04	13,21	14,28	9,27	,,

Ob der Fall von Betula eine Beteiligung von Phosphaten im Verkernungsprozesse betrifft, ist nicht bekannt. Bei Tectona würde wohl noch ein bedeutenderes Überwiegen des Kernholzphosphorsäuregehaltes gegenüber dem Phosphorsäuregehalt des Splintes sich herausstellen. Welche Phosphate und gepaarte Phosphorsäuren im Splinte besonders vorkommen, ist noch nicht näher festgestellt.

Bei der Untersuchung verschiedener Regionen des Holzkörpers eines Baumes ergab sich ausgesprochener Mehrgehalt an Phosphorsäure in den splintreichen oberen Partien des Holzkörpers:

	Stamm	Gipfel	Astholz	
Weißtanne	5,05 %	7,22 %	11,10 %	P_2O_5
Fichte	2,49 %	4,65 %	1,98 %	,,

Pinus silvestris, Wurzelstück: 7,55%; Stamm in Brusthöhe 5,99%; Stammmitte 6,17%; Gipfel 8,34%; Astholz 11,60% P_2O_5 in der Reinasche.

Korrespondierend damit wird bei der Gesamtholzanalyse verschieden alter Bäume bei jüngerem Stammholze mehr Phosphorsäure in der Asche gefunden.

Zu verschiedenen Jahreszeiten angestellte Holzanalysen ergaben in der Regel ein Ansteigen des Phosphorsäuregehaltes zur Zeit der lebhaftesten Vegetation und Wachstumstätigkeit. So fand SCHROEDER (l. c.) bei Acer platanoides am 5. April 20,5% P_2O_5 im Holze, am 18. Mai 14,7%. DITTMANN konstatierte in Buchenstämmen ein deutliches Maximum des Phosphorsäuregehaltes der Holzasche Ende Mai, ein zweites aber im Winter (Januar), welches auf die Speicherung von Reservestoffen zu beziehen wäre. Für Eichenholz ergaben sich die maximalen Werte im Juni und Juli.

	30. I.	31. III.	29. IV.	29. V.	28. VI.	27. VII.	26. VIII.	24 IX.	24. X.	22. XI.	21. XII.
					In Prozenten						
Fagus	16,31	14,43	10,96	16,50	13,81	.	.	13,28	.	13,45	
Quercus	14,46	17,26	16,75	20,29	21,29	22,07	18,97	17,70	16,13	12,68	16,69

Aesculusholz enthielt am 6. Mai 19,02%, am 1. September 21,73% Phosphorsäure; Juglans am 31. Mai 14,89%, am 27. August 12,21% Phosphorsäure (STAFFEL). SCHROEDER (l. c.) fand bei Picea excelsa im

	April	August	November	Februar	
im Außenholz	3,19	4,18	4,73	3,74 %	Phosphorsäure in der Asche
„ Innenholz	0,34	0,35	0,41	0,35 %	„ „ „ „

Hier scheint die Speicherung von Phosphorverbindungen im Splint im Herbst ihren Ausdruck zu finden.

Der Schwefelgehalt der Holzasche beträgt (als SO_3 berechnet) in der Regel nicht mehr als 3—4%, aber oft auch weniger als 1%. Über 4,5% Schwefelgehalt gehört schon zu den selteneren Befunden. Derartige Fälle liegen u. a. vor beim Holze von Prunus Mahaleb (6,94%); Sapium aucuparium (5,22%), Acer platanoides (4,62%), Quercus pedunculata (bis 5%, aber meist weniger), Morus alba (9,82%) und Pinus Strobus (10,29%). Über die Bindungsform des im frischen Holze enthaltenen Schwefels ist nichts bekannt. Auslaugen ließ sich in den Versuchen SCHROEDERS mit Fichtenholz nur eine sehr geringe Quantität von Schwefelverbindungen. Das Splintholz scheint in der Regel etwas höheren Schwefelgehalt aufzuweisen als das Kernholz; wahrscheinlich ist daran der Gehalt an lebenden Zellen mit ihren Eiweißsubstanzen beteiligt.

Die Kieselsäure schwankt bei den meisten Holzarten sehr in ihrer Quantität. Ganz fehlt sie wohl nie; die häufigsten Werte bewegen sich zwischen 1—3% der Reinasche. Doch gibt es eine Reihe von Holzgewächsen, deren Stammholz eine sehr kieselsäurereiche Asche liefert: Cedrela brasiliensis 45,87%, Gourliaea decorticans 13,95%, Celtis Tala 15,87%, Acacia cavenia 15,90%, Olea europaea 14,23%, Rubus Idaeus 7,23%, Kernholz der Eiche bis 11,54% (meist aber weniger), Fagus silvatica bis 10,04%, Larix decidua 11%, Picea excelsa bis 36,18% (stets SiO_2 reich!). Lärche und Fichte zeigen nicht nur im Holze den Charakter kieselsäurereicher Pflanzen. Abies pectinata ist stets ärmer an SiO_2 und reicher an Kalk [COUNCLER (1)]. Im Holze von Pinus maritima fanden FLICHE und GRANDEAU (2) 9,18% der Asche an Kieselsäure, bei Pinus austriaca 7,14% SiO_2.

Das Splintholz pflegt bei etwas kieselsäurereicheren Bäumen in der Regel viel ärmer an Kieselsäure zu sein als das Kernholz. So bei Lärche im Kernholz 10,96%, im Splint 4,92% der Asche an SiO_2; bei Quercus 50jähriger Stamm: Kernholz 11,54%, Splint 1,99% SiO_2; 345jähriger Stamm: Kern 5,01%, Splint 4,34% SiO_2 in der Holzasche. Ältere Stämme liefern eine kieselsäurereichere Holzasche als jüngere. Konform nimmt in den oberen Regionen des Holzkörpers der Kieselsäuregehalt gegenüber den unteren Stammpartien ab. So bekundet die Kieselsäure ihren Charakter als Membranbaustoff auch im Holze und kann, wie bei den Coniferen, hierin manchmal ein vikariierendes Verhältnis zum Kalk zeigen. Bei Verkernungsprozessen im Holze ist Kieselsäure ebenfalls beteiligt. Sehr kieselsäurereich sind auch die Chrysobalaneen in ihrem Holzkörper, von dem mir jedoch Aschenanalysen nicht vorliegen.

An dieser Stelle sei auch der eigentümlichen, nach älteren und neueren Analysen (3) aus fast reiner Kieselsäure bestehenden Füllmassen der Internodienhohlräume indischer und chinesischer Bambusen gedacht: Tabaschir, über dessen Eigenschaften COHN (4) zuletzt ausführlich berichtet hat.

---

1) G. COUNCLER, Just (1886), I, 161. — 2) F. FLICHE u. L. GRANDEAU, Ann. Chim. et Phys. (1873), p. 383. — 3) JOHN, Schweigg. Journ., *2*, 260 (1811); BREWSTER, Ebenda, *29*, 411 (1820), *52*, 412 (1828); BREWSTER u. TURNER, Pogg. Ann., *13*, 522 (1828); TURNER, Ann. Chim. et Phys. (2), *37*, 315 (1828); THOMSON, Journ. prakt. Chem., *8*, 21 (1836); POLECK, Botan. Zentr., *30*, 320 (1887). — 4) F. COHN, Beitr. Biol. d. Pfl., *4*, Heft 3, p. 365 (1887); TH. DYER, Nature (1887),

Nach COHN soll diese Kieselsäure aus der zur Zeit des Wachstums in den Internodienhohlräumen vorhandenen Flüssigkeit abgeschieden werden; doch ist der Bildungsprozeß wohl noch näher in der Heimat der tabaschirliefernden Bambusen zu verfolgen. KÜSTER (1) hat ausgeführt, daß die Tabaschirablagerung einen besonders extremen Fall von Massenproduktion von SiO_2 darstellt, welcher in seinen wesentlichen Grundzügen jedoch mit der Bildung der Kieselfüllungen im Holze von Moquilea (Chrysobalaneae) oder den Kieselkörpern der Zellen in den Geweben von Podostemonaceen übereinstimmt.

Chlor ist meist nur in sehr geringen Mengen, oft unbestimmbar kleinen Quantitäten im Holze vorhanden und macht in der Regel unter 1% höchstens 2—3% der Holzasche aus. Einzelne Fälle von bemerkenswert hohem Chlorgehalt des Holzes ergaben sich u. a. bei Prunus Mahaleb (11,25%), Tecoma radicans (5,04%), Aesculus Hippocastanum (bis 6,05%), Morus alba (4,67%). Dies scheint mit höherem Natrongehalt nicht verbunden zu sein. Die in Salzsteppen vorkommenden Holzgewächse dürften wohl hohen NaCl-Gehalt in der Asche des Holzkörpers besitzen; Analysen liegen aber bisher nicht vor.

Die Vorgänge bei der Translokation der Aschenstoffe im Holzkörper wie sie bei der Lösung der Reservevorräte zu Beginn der Vegetationsperiode, und bei der Speicherung der Reservesubstanzen am Ende der Vegetationsperiode im Holzkörper erfolgen, sind noch wenig untersucht. Beachtenswert sind diesbezüglich die Erfahrungen, welche HORNBERGER (2) bei der Analyse des Blutungssaftes von Betula alba und Carpinus Betulus sammelte. Während der Blutungsperiode stieg der Gehalt des Blutungssaftes an Mineralstoffen an. Aus höher gelegenen Bohrlöchern wurde ein an Aschenstoffen reicherer Saft gewonnen, als aus den tiefer gelegenen Bohrlöchern. Auch war der tagsüber ausfließende Saft reicher an Mineralstoffen als der während der Nacht gesammelte Saft. Der Gehalt an Kali, an Kalk und Magnesia nahm im Blutungssaft während der Periode zu. Der Saft aus den höher oben angelegten Bohrlöchern war reicher an Kali und auch reicher an Phosphorsäure. Diese Mineralstoffe stammen wohl aus gelösten Reservestoffvorräten im Holzkörper des Stammes, und sind nicht als Stoffe, die direkt dem Bodensubstrate entnommen wurden, anzusehen.

ANDRÉ (3) bestimmte wieder die in den Zweigen der Roßkastanie enthaltenen Aschenstoffe während des Ganges der Vegetationsperiode, wobei sich folgende Zahlenwerte ergaben:

	29. Juli		11. Sept.		14. Okt.		16. Nov.
	Zweige	Blätter	Zweige	Blätter	Zweige	Blätter	Zweige
Trockengewicht v. 100 Zweigen u. der Blättern	207,50	1202,30	330,80	1271,10	303,00	1410,50	329,80
Gesamtasche	10,648	85,964	14,158	97,493	14,544	115,661	14,214
SiO_2	0,095	14,187	0,165	18,812	0,084	18,195	0,056
P_2O_5	1,369	6,492	1,786	6,228	1,848	7,332	2,044
CaO	4,274	27,292	6,549	39,785	5,938	51,201	5,804
K_2O	1,763	18,876	2,249	14,236	2,575	13,400	2,671

Zu Beginn des Versuches hatten die Zweige ihr Längenwachstum bereits abgeschlossen. Blüten waren auf ihnen nicht entwickelt worden.

p. 396; ROWNEY, ITO, Just (1887), II, 509. Historisches: C. HOSSEUS, Beihefte Botan. Zentr. (II), *30*, 88 (1913); Verh. Naturf. Ges. (1911), II, *1*, 407.

1) E. KÜSTER, Ber. botan. Ges., *15*, 136 (1897); G. BARGAGLI-PIETRUCCI, Malpighia, *17*, 23 (1903). — 2) R. HORNBERGER, Biedermanns Zentr. Agr. Chem. (1887), p. 821. — Birkenholz enthält nach RUBNER, Arch. f. Physiol., 1915, p. 71, 8,3% Asche. — 3) G. ANDRÉ, Compt. rend., *134*, 1514 (1903).

Die Speicherungsvorgänge spiegeln sich insbesondere in der Zunahme an Phosphorsäure wieder und auch in der Steigerung des Kaligehaltes.

§ 3.

Die Aschenstoffe in der Rinde der Holzgewächse.

Schon VAUQUELIN (1) wies 1812 alle wesentlichen Aschenbestandteile in der Rinde von Aesculus Hippocastanum nach, und seither waren viele analytische Studien den in den Baumrinden enthaltenen Mineralstoffen gewidmet, von denen jedoch die Mehrzahl nicht von wissenschaftlich-physiologischen Gesichtspunkten aus angestellt war. Auch hier bieten die in nicht unbedeutender Zahl vorhandenen forstbotanischen Arbeiten derzeit für unsere Zwecke das schätzbarste Material, an das sich allerdings noch viele rein physiologisch-chemische Studien anzureihen haben werden, ehe die Hauptgrundzüge des Mineralstoffwechsels der Baumrinden als festgestellt gelten können.

Während der Umbildung der äußeren Decke der Zweige aus einem chlorophyllführenden Parenchym oder Kollenchym zu einer immer dicker werdenden Korkschicht verändert sich auch der Gehalt an Aschenstoffen in der Rinde in entsprechender Weise. Der Gesamtgehalt an Mineralsubstanzen in Korkrinden und Borken stellt sich in der Regel erheblich tiefer als der Mineralstoffgehalt in der grünen primären Rinde, welcher den in assimilatorisch tätigen Organen vorhandenen Verhältnissen entspricht. Doch sind die Differenzen bei den verschiedenen Holzgewächsen nicht gleich groß. Die jungen Weidenrinden enthalten nach COUNCLER (2) bei Salix viminalis 15,296%, purpurea 15,172%, purpurea-viminalis 13,038%, alba 13,88%, amygdalina 13,624%, caspica 11,585% Gesamtasche in der Trockensubstanz. In alten Rinden von Holzgewächsen ist der Aschengehalt meist auf 2—5% herabgesunken. Die Verminderung des relativen Aschengehaltes setzt sich häufig noch in mehrjährigen und vieljährigen Rinden fort. Nach den bei WOLFF gegebenen Zusammenstellungen enthielten in einem untersuchten Falle jüngere Rinden von Salix alba 4,85%, ältere Rinden 4,09% Aschenstoffe. Bei Fichtenrinden von einem 135jährigen Baume 2,02%, 172jährigen 1,57%, 220jährigen 0,94% Aschenstoffe. Die Rinde von 15-jährigen Eichen 2,74%, von 25jährigen Eichen 3,77%, von 50jährigen 8,24%, von 345jährigen 2,86%. Eine direkte Zunahme des Aschengehaltes mit dem Alter der Rinde ergab sich bei Fagus: 10jährig 2,15%, 20jährig 3,13%, 40jährig 3,08%, 50jährig 3,47%, 220jährig 4,76% Aschengehalt. Hier spielen offenbar gegenläufige Vorgänge, wie Einlagerung von Kalk usw., eine Rolle, doch ist dies nicht näher verfolgt worden. Von unseren Coniferenarten besitzt nach COUNCLER die Weißtanne die aschenärmste Rinde, reicher an Mineralbestandteilen ist die Lärchenrinde, noch reicher die Fichtenrinde.. In selteneren Fällen erreicht der Aschengehalt der Rinde 8—9% der Trockensubstanz: Punica Granatum, Prunus avium (9,76%), Ulmus campestris (9,26%). Zu den aschenärmsten Rinden dürfte jene der Birke zählen, wo die Stammrinde nur 0,38—0,70%, die Stammborke 0,73% Reinasche enthält (WOLFF, l. c.).

Nach NYGARD (3) enthält die Trockensubstanz von Cascarilla-Rinde 11,29%, von China succirubra 2,95%, Condurango 12,32%, Cascara Sagrada

---

1) VAUQUELIN, Ann. de Chim., *83*, 42 (1812). — 2) COUNCLER, Ztsch. Forst- u. Jagdwes., *18*, 143 (1886). — 3) A. NYGARD, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125.

8%, Eiche 8,5%, Quillaja 11,58%, Weide 5,92% Asche. Der Rindensaft von Croton echinocarpus M. A. enthielt in Bestimmungen von PECKOLT (**1**) 79,606% Wasser und 1,285% Asche, von Johannesia princeps 40% Wasser und 10% Asche.

Die Rinde der oberen Baumregionen wurde in einer Reihe von Fällen aschenstoffreicher gefunden als die Stammrinde im unteren und mittleren Teil. Doch scheint dies nicht ausnahmslos zu gelten, da wahrscheinlich Vorgänge wie Einlagerung bestimmter Mineralstoffe und andere nicht näher bekannte Prozesse dem geringeren Mineralstoffgehalte in den äußeren Schichten der Borke entgegenstehen.

Den bei WOLFF gesammelten Angaben seien nachstehende Daten entnommen. Quercus: 345jähriger Baum: Stammrindenborke 2,86%; Astrinde 4,05%. Betula: Zweigrinde 3,44%; weiße Stammrinde 0,38%; Stammborke 0,73%. Picea excelsa: Stammrinde 1,376%; Gipfel 1,842%; Astrinde 2,815%; Borkenschuppen 1,45%; innere Schichten 1,98%. Doch fand ZEUMER (**2**), daß bei der Fichte der Aschengehalt der Rinde mit der Höhe des Baumes abnimmt. Für Abies pectinata wird angegeben: Stammrinde 1,805%; Gipfel 1,995%; Astrinde 2,742% Aschengehalt.

Nach einigen Angaben scheint der Aschenstoffgehalt jüngerer Rinden auch mit der Jahreszeit Schwankungen zu erleiden. Solche können schon (prozentisch gerechnet) durch höheren oder niederen Gehalt an organischen Reservestoffen zustande kommen, abgesehen davon, daß Ansammlung bestimmter Mineralstoffe zu bestimmten Vegetationsstadien eine Rolle spielt. Näher analysiert sind diese Angaben noch nicht. Acer platanoides enthielt in der Rinde am 5. April 5,178%, am 18. Mai 5,713% Aschenstoffe. Junge Rinde von Aesculus am 6. Mai 8,68%, am 1. September 6,57% Asche: Rinde von Juglans regia am 31. Mai 8,75%, am 27. August 6,40% Mineralstoffe (Zitate nach WOLFF).

Nach den vorhandenen Bestimmungen ist etwa ¾ der gesamten in der Rinde vorkommenden Aschenstoffe in Wasser unlöslich und nur 25% bestehen aus wasserlöslichen Verbindungen. HEHNER (**3**) fand in fünf Bestimmungen bei Zimtrinde:

löslich	25,04	28,98	25,22	26,36	17,67 %	der Asche
unlöslich	74,96	71,02	74,78	73,64	72,33 %	„ „

FREY (**4**) in der Rinde von Canella alba 88,4% unlösliche und 13,1% wasserlösliche Aschenstoffe. HECKEL und SCHLAGDENHAUFFEN (**5**) in der Rinde von Sarcocephalus esculentus 16,63% wasserlösliche und 83,58% unlösliche Asche. BERTHELOT (**6**) fand im Stamm und Rinde der Eiche:

lösliche	SiO_2 1,86%	K_2O 4,18%	CaO 3,48 %	Asche 16 %
unlösliche	„ 0,85 %	„ 0,01 %	„ 1,78 %	

Das Kali ist somit fast ganz löslich.

Kali ist in jungen Rinden manchmal in sehr bedeutender Menge enthalten und bildet z. B. in junger Aesculusrinde einen Hauptbestandteil der Reinasche, bis 61 % derselben. Für Weidenrinden fand COUNCLER 34,32 % (purpurea), 32,04 % (viminalis), 29,46 % (rubra), 33,77 % (amyg-

---

1) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *15*, 183 (1905). — **2**) ZEUMER, Tharandter forstl. Jahrb., *36*, 141 (1886). — **3**) O. HEHNER, Pharm. Journ. (3), *10*, 545 (1880). — **4**) FREY, Just (1885), I, 76. — **5**) HECKEL u. SCHLAGDENHAUFFEN, Ann. Chim. et Phys. (6), *6*, 313 (1885). — **6**) BERTHELOT, Compt. rend., *142*, 313 (1906).

dalina) der Reinasche an Kali. Für mittelalte Rinden kann aber schon 20% der Asche als hoher Kaligehalt gelten und alte Stammrinden gehören zu den entschieden kaliarmen Organen. Nach COUNCLER enthält die Stammrinde von Abies pectinata immer über 20% K_2O in der Asche, bei der Fichte ist derartiger Kalireichtum selten, Lärchenrinde wies stets weniger Kaligehalt auf. Kalireich sind die meisten jungen Chinarinden des Handels (gegen 30% K_2O), Ölbaumrinde (15%), Sapium aucuparium [17,6%), Linde (16,5%), Daphne Mezereum (20%). Die Rinden der meisten einheimischen Baumarten haben 3—5%, selten 7—8% der Asche an Kali. Die relativ sehr aschenarme Birkenrinde enthält nicht wenig Kali: Stammrinde 8,43—10,46%, Zweigrinde 13,91% K_2O. In junger Juglansrinde wurde bis 45,75% Kali gefunden. Hingegen sinkt der Kaligehalt der Asche von Borkenschuppen der Fichte bis 3,33% und 1,06%, bei Ulmus campestris 2,22%, bei Eichenborke bis 0,99%, Corylus Avellana 1,66%, Carpinus Betulus 2,23%. Stark verkorkte Rinden, wie diejenige von Ulmus werden frühzeitig kaliarm.

Wie der Kaligehalt der Rinden mit zunehmendem Alter des Baumes sich verhält, ist aus nachstehenden Daten zu ersehen. Fichtenrinde: 135-jährige 1,06%; 172jährige 2,67%; 220jährige 2,14%; Fagus silvatica: 10jährige 17,99%; 20jährige 12,21%; 40jährige 6,78%; 50jährige 5,0%; 220jährige 10,86% K_2O. Quercus: 15jährig 9,76%; 25jährig 8,3%; 50-jährig 2,78%); 345jährig 4,04%; Astrinde 16jährig 3,02%; 40jährig 0,99%; 345jährig 8,12% K_2O in der Asche. Das Herabgehen des Kaligehaltes mit dem Älterwerden der Rinde ist somit nicht in allen diesen Fällen deutlich ausgeprägt. Im allgemeinen sind die inneren jüngeren Schichten der Rinde kalireicher als die äußeren Rindenlagen. Es ist nicht bekannt, worauf diese prozentige Verringerung des Kaligehaltes zurückzuführen ist, und vor allem wäre sicherzustellen, ob es sich um eine absolute Verminderung des Kali handelt oder um ein relatives Zurücktreten. Die Rinde der oberen Stammpartien und der Äste pflegt kalireicher zu sein als die untere Stammrinde. Für Picea excelsa ergaben sich für den Kaligehalt der Asche folgende Werte: Stammrinde 8,48%, Gipfel 20,82%, Astrinde 12,12%. Für Abies pectinata: Stamm 20,46%, Gipfel 20,16%, Astrinde 20,51%; hier ergab sich also kein Unterschied im Kaligehalt.

In einer Reihe von Fällen erwies sich der relative Kaligehalt der Rindenasche zur Zeit der lebhaftesten Vegetationstätigkeit im Frühling am größten. Rinde von Acer platanoides: 5. April 12,05%, 18. Mai 8,96%. Aesculus: 6. Mai 61,0%, 1. September 24,19% K_2O. Juglans: 31. Mai 45,75%, 27. August 11,63% K_2O. Dies gilt wohl nur für die an Reservestoffen reichen jungen Rinden.

Der Natrongehalt der Baumrinden ist meist nur gering und beträgt 0,5—2% der Asche; doch sind holzige Halophyten noch nicht untersucht. Beispiele höheren Natrongehaltes bieten folgende Rinden: Ulmus 10,09%; Prunus Avium 15,74%; Atherosperma moschatum 13,91%; Calisaya-Chinarinde 8,6%; Cedrela febrifuga 5,53%; nach HECKEL und SCHLAGDENHAUFFEN auch Sarcocephalus esculentus (9,75% wasserlösliches Natron).

Kalk ist der Hauptbestandteil der Asche älterer Baumrinden. Die Asche alter Eichenborken besteht zu 95% aus Kalk und 70—80% Kalkgehalt dürfte nach den vorhandenen Analysen bei älteren Baumrinden die Regel darstellen. In den jungen, noch mit Assimilationsparenchym versehenen Zweigrinden ist der Kalkgehalt der Asche zwar viel geringer, immerhin aber noch ansehnlich groß (40%). Die vorhandenen Kalkverbindungen sind nur zum geringsten Teile wasserlöslich. In der Asche pflegt sich der Kalk fast ausschließlich als Carbonat vorzufinden, nur zu einem sehr kleinen An-

teile als Phosphat. Abgesehen von dem mitunter sehr reichlichen Vorkommen von Kalksalzen in Form von Krystalldrusen und Einzelkrystallen im Innern von Rindenzellen spielt der Kalk als Substanz, welche beim Aufbau der Zellmembranen zur Verwendung gelangt, in den Rinden eine hervorragende Rolle. Mit Kieselsäure besteht hinsichtlich der letztgenannten Funktion nur selten ein vikariierendes Verhältnis, z. B. bei Picea excelsa, doch jedenfalls ausgeprägter als im Holzkörper.

Auch aschenarme Rinden, wie jene von Betula, enthalten einen hohen Prozentsatz an Kalk in der Asche. Bei der Analyse von Rinden in verschiedenen Altersstadien ergab sich meist ein deutliches Ansteigen des prozentischen Gehaltes an Kalk in der Rindenasche mit dem Alter. So enthielt in den von WOLFF zusammengestellten Untersuchungen die Rinde von Fagus im Alter von 10 Jahren 40,64% Kalk, im Alter von 20 Jahren 70,35% CaO, worauf aber bis 220 Jahren keine weitere relative Kalkvermehrung der Rinde beobachtet wurde. 15jährige Eichenrinde enthielt in der Asche 78,16% Kalk, 50jährige Rinde 93,46%. Bei Fichtenrinde war jedoch ein analoger Befund nicht zu verzeichnen. Aus verschiedenen Regionen des Baumes entnommene Fichtenrinde wies kleine Differenzen im Kalkgehalte auf und die Gipfel- und Astrinde erwies sich weniger kalkhaltig, als die Stammrinde; die Borkenschuppen waren etwas kalkärmer als die inneren Rindenschichten. Bei der Weißtanne war wieder der Kalkgehalt der Ast- und Gipfelrinde etwas geringer als jener der Stammrinde. Ein abschließendes Urteil läßt sich jedoch diesen Untersuchungen noch kaum entnehmen.

Sehr ausgeprägte Schwankungen im prozentischen Kalkgehalte der Rinde, welche aus der Bewegung der Reservestoffe und den Altersveränderungen wohl leicht verständlich sind, zeigten sich bei einigen jungen Zweigrinden mit der Vegetationsperiode. So enthielt Rinde von Aesculuszweigen am 6. Mai 9,24%, am 1. September aber 61,34% der Asche an Kalk. Juglans am 31. Mai 18,37%, am 27. August 70,08% CaO. Acer platanoides am 5. April 70,19%, am 18. Mai 76,26% Kalk in der Rindenasche.

Die Magnesia tritt unter den Mineralstoffen von Baumrinden sehr zurück und macht bei älteren Rinden in der Regel nicht mehr als 2—5% der Asche aus, kann selbst unter 1% sinken. Auffallend magnesiareich wird die Asche der Birkenrinde angegeben (bis 14%). Jüngere Rinden haben annähernd denselben Magnesiagehalt wie Laubblätter, und der prozentische MgO-Gehalt nimmt mit dem Älterwerden ab. So enthält junge Rinde von Daphne Mezereum 12,39% Magnesia; jüngere Weidenrinde (S. alba) 4,2% MgO, ältere Weidenrinde 3,80%. Doch tritt in den bei WOLFF zusammengestellten Analysen verschieden alter Baumrinden keine deutliche gesetzmäßige Beziehung zwischen Alter und Magnesiagehalt zutage. Auch die verschiedenen Regionen der Bäume entnommenen Rindenproben lieferten hinsichtlich ihres Magnesiagehaltes kein Ergebnis, welches etwa auf eine Zunahme des Magnesiagehaltes in der Rinde nach den jüngeren Ästen zu gedeutet werden könnte.

Der Eisengehalt der Rinden beträgt meist 0,5—3% Fe_2O_3 in der Reinasche, doch häuft sich wie in anderen alternden Organen das Eisen öfters in größeren Mengen an, und 4—5% Eisengehalt gehört keineswegs zu den seltenen Befunden. Höher steigt die Eisenquantität wohl aber nur vereinzelt. So wird verzeichnet von der Rinde von Abies pectinata bis 9,4%, Acacia Cebil 12,55%, Picea excelsa bis 7,8%, Acer platanoides 7,18%, Betula 5,25% der Asche an Fe_2O_3. Ältere Rindenteile sind häufig, doch nicht immer, die Fe-reicheren Partien. Aus den vorhandenen analytischen Befunden seien die nachstehenden namhaft gemacht.

	Proz.			Proz.	
Betula, Zweigrinde . .	1,09	Fe_2O_3	Picea excelsa, Stammrinde	4,32	Fe_2O_3
„ weiße Stammrinde	5,25	„	„ „ Gipfelrinde	6,33	„
„ Stammborke . .	0,24	„	„ „ Astrinde	4,68	„
Abies pectinata, Stamm	6,73	„	„ „ Borkenschuppen	1,59	„
„ „ Gipfelrinde	9,18	„	„ „ innere Schichten	1,77	„
„ „ Astrinde .	9,40	„	Rinde eines 220 jähr. Stammes	7,8	„
Quercus, 15 jähr. Stamm	3,40	„	„ „ 172 jähr. Stammes	2,67	„
„ 50 jähr. „	0,34	„	„ „ 135 jähr. Stammes	0,49	„
Acacia Cebil, äußere Rindenschichten . .	12,55	„			
Acacia Cebil, innere Rindenschichten . .	6,13	„			
Salix alba, jüngere Rinde	0,91	„			
„ „ ältere „	3,67	„			

Mangan ist in der Rinde der Bäume ebenso verbreitet, wie im Holzkörper. Meist ist die vorhandene Quantität nur sehr gering und beträgt weniger als 1%. Cinnamomumrinden enthalten nach HEHNERS Ermittelungen 0,13—0,97% Mn_3O_4. In Fagusrinden wurde aber bis 5,97% Mangan, ebensoviel in Chinarinden konstatiert, in der Rinde von Carpinus Betulus wurde 8,48% Mangan gefunden [F. SCHULZE (1)], und nach SCHROEDERS Analysen kann Birkenrinde (Stamm) 18,36%, Fichtenstammrinde etwa 13% und Abies pectinata in der Stammrinde sogar 41,23% der Asche an Mangan enthalten. Die Stammrinde ist das manganreichste Organ der Bäume und übertrifft noch den Holzkörper an Mangangehalt. In Rinde und Holz zusammen ist ¾ der Gesamtmanganmenge der Pflanzen gespeichert. Auch der Kupfergehalt scheint in der Rinde von Holzpflanzen, welche auf kupferhaltigem Substrat leben, nach den Bestimmungen von LEHMANN (2) stets größer zu sein, als der Kupfergehalt im Holzkörper. Der Kupfergehalt der Laubblätter ist dem der Rinden zunächststehend.

Phosphorsäure macht in Baumrinden mittleren Alters meist 1,5 bis 4% der Asche aus, und vermindert sich, wie der Gehalt an Kali, mit zunehmendem Alter. Junge Rinden enthalten 8—10% Phosphorsäure in der Asche, so wie Laubblätter, ja bis 20%. Für Weidenrinden (zum Korbflechten dienende Zweige) gibt COUNCLER folgende Zahlen: S. purpurea 10,30%; viminalis 10,11%; rubra 11,6%; amygdalina 13,81% der Reinasche an Phosphorsäure. Hoher Gehalt an Phosphorsäure (12,77%) wird von der weißen Stammrinde der Birke verzeichnet; in welcher Form sie hier vorgebildet ist, ist noch näher festzustellen; vielleicht ist Ca- und Mg-Phosphat reichlich zugegen. Chinarinden enthalten bis 18% Phosphorsäure.

Gegen die oberen Regionen des Stammes und der Äste pflegt der Phosphorsäuregehalt der Rinde stark zuzunehmen; so wurde gefunden für:

	Stammrinde	Gipfel	Astrinde	Borkenschuppen	Innere Schichten	
Fichte	4,32	6,33	4,68	1,59	1,77 %	P_2O_5
Weißtanne	6,73	9,18	9,40	·	%	„

1) FR. SCHULZE, in Schüblers Agr. Chemie, *2*, 80 (1853). Qualitat. Angaben bei J. GÖSSL, Beihefte Botan. Zentr., *18*, I, 124 (1904). Über Mn in Rinden auch WESTMAN u. ROWAT, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 558 (1918). — 2) LEHMANN, Arch. Hyg., *27*, 1 (1896).

Auch bei der Untersuchung der Rinde verschieden alter Bäume trat eine Abnahme des relativen Phosphorsäuregehaltes mit zunehmendem Alter zutage:

Fichte	135 jähr.	10,37 % P_2O_5		Fagus	10 jähr.	7,96 % P_2O_5
„	172 „	8,54 % „		„	20 „	5,44 % „
„	220 „	6,43 % „		„	40 „	1,18 % „

Quercus	15 jähr.	3,4 % P_2O_5
„	25 „	2,75 % „
„	50 „	0,34 % „

Im Frühling erwies sich die Rinde junger Zweige viel reicher an Phosphorsäure in Ascheprozenten als in den folgenden Vegetationsstadien:

Acer platanoides:	5 April	7,18 % P_2O_5	Aesculus:	6. Mai	19,54 % P_2O_5
„ „	18. Mai	3,50 % „	„	1. Sept.	6,95 % „

Juglans:	31. Mai	19,64 % P_2O_5
„	27. Aug.	5,85 % „

Inwiefern es sich um absoluten Rückgang und um relative Verarmung infolge des wachsenden Kalkgehaltes handelt im Laufe des Wachstums, ist wohl noch festzustellen. Auch ist über die Bindungsformen der Phosphorsäure in der Rinde von Holzpflanzen eine eingehende Untersuchung noch nicht vorhanden.

Tonerde ist in geringer Menge: 0,5—1% oder 2% der Reinasche, ein häufiger Bestandteil der Baumrinden. Größere Mengen (bis 12,2%) fand WITTSTEIN (1) in Fichtenrinde. Ein regelmäßiger Bestandteil ist Tonerde auch hier nicht.

Schwefel macht, als Schwefelsäure berechnet, nur einen sehr geringen Bruchteil im Stoffgemenge der Rindenasche aus. Sehr oft findet man unter 1%, ja unter 0,5%. Höhere Werte werden angegeben von Quercus (3%), Carpinus Betulus (2,35%), Populus tremula (2,33%), China rubra-Rinde (3,85%), Calisayarinde (5,35%), Salix alba (2,72%), Betula alba (2,75%), Pinus montana (4,63%), Borke der Fichte (6,07%), Olea (4,79%), Sapium aucuparium (5,05%), von Alstonia constricta selbst 12,2%). Die Form und Bindung des Schwefels in Rinden ist noch ganz unbekannt, und wir wissen auch nicht, welche Schwefelverbindungen vorherrschen.

In jüngeren Rindenteilen pflegt, wahrscheinlich wegen des Eiweißgehaltes zahlreicher Zellen, mehr Schwefel gefunden zu werden als in älteren Rindenpartien. So ergab sich für:

Fagusrinde	10 jähr.	1,06 % S		Quercusrinde	15 jähr.	1,35 % S
„	20 „	0,54 % „		„	25 „	0,68 % „
„	40 „	0,08 % „		„	50 „	0,14 % „
„	220 „	0,06 % „				

Die Kieselsäure bildet sehr häufig nur 1—2% der Reinasche von Baumrinden und steigt andererseits in den Rinden der Chrysobalaneen, z. B. in der zuletzt von COHN (2) beschriebenen Cautorinde von einer Moquilea-Art aus Trinidad, so weit, daß 96% der Asche aus Kieselsäure bestehen und man fast von einer Verkieselung an der lebenden Pflanze sprechen darf. Es sind

1) WITTSTEIN, Hennebergs Journ. f. Landw. (1855). — 2) F. COHN, Botan. Zentr., *31*, 288 (1887).

in solchen Fällen die Zellmembranen von einer intensiven Einlagerung von Kieselsäure betroffen. Über die Verhältnisse der Chrysobalaneen mit ihren Kieselsäureablagerungen hat sodann KÜSTER (1) ausführlich berichtet.

Weitere Beispiele von höherem Kieselsäuregehalt in Rinden sind (nach den bei WOLFF zusammengestellten Daten):

	Proz.		Proz.
Acacia Cebil, äußere Schichten	24,06 SiO_2	Betula, Stammrinde	14,43 SiO_2
Sapium aucuparium	23,39 „	Picea excelsa	39,20 „
Alstonia constricta	20,39 „	„ „ Borkeschuppen	31,74 „
Prunus avium	21,30 „	Pinus montana	17,36 „
Fagus, Stammrinde	22,25 „		

In einer Reihe von Fällen ist ein vikariierendes Verhältnis zwischen dem Gehalte an Kieselsäure und Kalk in den Rinden deutlich erkennbar:

	in Prozenten CaO	in Prozenten SiO_2		in Prozenten CaO	in Prozenten SiO_2
Picea excelsa	27,44	39,20	Ulmus campestris	72,7	8,77
Tilia parvifolia	62,22	—	Cedrela febrifuga	82,65	1,67
Prunus Mahaleb	80,87	1,48	Fagus silvatica	70,35	7,74
„ avium	44,74	21,30	Quercusborke	93,46	0,95
Cinchona Calisaya	57,23	9,35	Betula, Stammrinde	38,33	14,43
Abies pectinata	11,48	14,47			

Die älteren Rindenteile weisen höheren Kieselsäuregehalt auf als die jüngeren:

Fichte: Borkenschuppen	31,74 %	SiO_2
„ innere Rindenschichten	3,36 %	„
Salix alba, jüngere Schichten	0,95 %	„
„ „ ältere „	1,50 %	„
Acacia Cebil, äußere Rindenschichten	24,06 %	„
„ „ innere „	1,40 %	„
Betula, weiße Stammrinde	4,11 %	„
„ Borke	0,73 %	„
„ Zweigrinde	0,50 %	„

Der Chlorgehalt der Rindenasche beträgt meist unter 1% und übersteigt, soweit die Erfahrungen reichen, selten 3%. Höhere Werte für Chlor ergaben sich bei Calisayarinde (3,29 %), Aesculusrinde (4,54 %), Tecoma (3,9 %) und Petalostigma quadriloculare (2,99 %).

Fünfundfünfzigstes Kapitel: Der Mineralstoffwechsel der Laubblätter.

§ 1.

Die Verhältnisse des Gesamtaschengehaltes.

Die in voller Ausübung ihrer Funktionen stehenden, fast oder vollkommen ausgewachsenen Laubblätter müssen als relativ aschenstoff-

1) E. KÜSTER, Ebenda, *69*, 46 (1897).

reiche Organe bezeichnet werden und übertreffen die grünen ausgewachsenen Stengelteile krautartiger Gewächse bedeutend an Gehalt an Mineralstoffen, wie folgende Zahlen zeigen:

	Reinasche in d. Trockens. Blätter Proz.	Stengel Proz.	
Lupinus luteus	6,06	3,86	nach WOLFF, Aschenanalysen.
Brassica Rapa	20,84	9,18	
Humulus Lupulus . .	13,60	3,74	
Primula farinosa . . .	11,73	5,90	
Nicotiana Tabacum . .	11,87	7,73	
Anethum graveolens .	15,03	9,86	
Gossypium herbaceum	7,86	1,81	
Aster Amellus	10,08	3,87	COUNCLER, Landw. Versuchst., Bd. XXVII, p. 375 (1881).
Achyranthes aspera L.	24,33	8,67	WARDEN, Chem. News, Vol. LXIV, p. 161 (1891).
Hedera Helix	12,60	4,92	BLOCK, Arch. Pharm., Bd. CCXXVI, p. 953 (1888).

Ferner nach PECKOLT (1) in

Manihot palmata M. A.	Blätter	67,368%	Wasser	8,158%	Asche
„ „	Zweige	75,454%	„	3,182%	„
„ Glaziovii	Blätter	77,55 %	„	6,250%	„
„ „	Stiele	81,395%	„	3,488%	„

Im Jugendzustande der Pflanzen besteht dieses Verhältnis noch nicht, sondern es übertrifft vielmehr der Aschenstoffgehalt der jungen Stengel denjenigen der jugendlichen Blätter. So ergab sich z. B. für Trifolium pratense (WOLFF, l. c., Bd. I, p. 61):

II. Untersuchungsperiode:	Blätter	7,30 %	Stengel	9,22 %	Reinasche in der Trockens.
III. „	„	8,20 %	„	2,78 %	
IV. „	„	9,09 %	„	2,70 %	

und für Linum usitatissimum (ib., p. 108) nach BRETSCHNEIDER und KÜLLENBERG

	Blätter			Stengel		
	Trockensubstanz Proz.	Reinasche Proz.	Reinasche in 1000 g Frischsubstanz	Trockensubstanz Proz.	Reinasche Proz.	Reinasche in 1000 g Frischsubstanz
Am 6. Juni	13,40	10,36	13,88	10,10	11,08	11,19
„ 13. „	15,78	8,70	13,73	16,12	6,61	10,66
„ 2. Juli	22,29	6,83	15,22	32,65	3,32	10,84
„ 7. „	26,79	5,53	14,82	35,65	3,13	11,16

Die Zusammensetzung der Asche von Laubblättern und assimilierenden Stengeln weist hingegen keine bedeutenden Differenzen auf. Das zitierte Beispiel von Linum zeigt, daß ausgewachsene Stengelteile einen höheren Gehalt an Gesamttrockensubstanz besitzen als ausgewachsene Blätter, während sie in jugendlichem Zustande trockensubstanz-

1) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *16*, 22 (1906).

ärmer waren als die jungen Blätter. Berechnet man das Verhältnis zwischen den Werten der Trockensubstanz in Prozenten der Frischsubstanz und den Werten der Asche in Prozenten der Trockensubstanz, so erhält man in diesem Falle für die einzelnen Vegetationsperioden folgende Zahlen:

6. Juni	Stengel	0,91	Blätter	1,29
13. „	„	2,44	„	1,81
2. Juli	„	9,83	„	3,26
7. „	„	11,39	„	4,84

Daraus ersieht man, daß in den Stengeln die Aschenstoffe schon frühzeitig ein relativ kleineres Quantum der Trockensubstanz ausmachen, während die Aschenstoffe der Blätter frühzeitig einen höheren Anteil an der Konstitution der Trockensubstanz nehmen.

8—12% der Trockensubstanz an Mineralstoffen scheint nach einer großen Zahl vorhandener Analysen bei den ausgewachsenen Laubblättern das gewöhnliche Ausmaß des Gehaltes an Aschensubstanzen zu sein. Doch wird dasselbe sehr häufig bedeutend übertroffen, seltener fallen die Werte für die Reinasche erheblich niedriger aus.

Von höheren Werten seien von den vorhandenen Befunden erwähnt:

Solanum tuberosum	18,19—25,77%	Beta vulgaris . .	29,23% Asche
Myosotis arvensis	17,85%	Ranunculus repens	18,00% „
Scleranthus annuus . . .	17,20%	Senecio Jacobaea .	23,24% „
Urtica dioica	17,82%	Nicotiana Tabacum	22,97% „
Ricinus communis . . .	20,11%	Xanthium spinos.	17,97% „

Haensel (1) gibt für Blätter von Spinacia oleracea 20,52% Asche in der Trockensubstanz an. Nygard (2) für Tussilago Farfara 18,94%, Malvenblätter 20,84%, Maticoblätter 20,12%, Equisetumkraut 24,24%. Analysen von Blattgemüsen von Rubner (3) ergaben für die Trockensubstanz von

Spinat	16,42% Asche	Wirsingkohl .	6,33% Asche
Kopfsalat . .	13,62% „	Blumenkohl .	8,32% „
Brunnenkresse	10,43% „	Grünkohl . .	11,5 % „

Bei Mesembryanthemum crystallinum kann der Gehalt an Aschenstoffen 50% der Trockensubstanz und mehr betragen [Heckel, Mangon (4)]. Im Blatt von Agave americana fand Zellner (5) 7,54% Aschenbestandteile.

Durch sehr geringen Aschenstoffgehalt zeichnen sich die Nadeln mehrerer Coniferenarten aus: Larix decidua bis 2,48%, Pinus silvestris bis 1,48%, Pinus austriaca bis 1,80% Reinasche in der Trockensubstanz sinkend (6). Andere Fälle sind Sarothamnus (Cytisus) scoparius mit 1,81%, Syringa vulgaris mit 3,47%, Quercus mit 3,50%, Eriophorum vaginatum mit 2,71%, Juncus conglomeratus mit 3,37%, Calamus Rotang mit 3,16% Aschengehalt ihrer Blätter.

---

1) E. Haensel, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909). — 2) A. Nygard, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125. — 3) Rubner, Arch. Anat. u. Physiol., 1915, p. 219. — 4) Mangon, Compt. rend., *96*, 80 (1883); Heckel, Ebenda, 592. — 5) Zellner, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 2 (1918). — 6) Vgl. auch H. Sertz, Mitteil. kgl. sächs. forstl. Vers.anst. Tharandt, I, 4 (1917).

Die Größe der Schwankungen im Aschengehalte betrug nach den Zusammenstellungen von WOLFF bei

Solanum tuberosum . .	12,9— 5,2%
Beta vulgaris	21,0—11,1%
„ Zuckerrübe	29,2— 8,3%
Brassica Rapa	15,4— 7,8%
Daucus Carota	17,8— 8,4%
Cichorium Intybus . . .	12,5— 8,4%

Digitalis purpurea . . . 6,61—14,4% nach NEWCOMB (1).

Zostera marina und angustifolia nach RÖRDAM (2) als Beispiel submerser Pflanzen:

Zost. marina	Winter	24,86 %	Asche	7,66 %	Wasser
„ „	Sommer	20,52 %	„	15,07 %	„
„ angustif.	Winter	25,23 %	„	6,83 %	„
„ „	Sommer	19,12 %	„	18,54 %	„

in Prozenten der lufttrockenen Substanz.

Die Verhältnisse des Aschengehaltes während des Entwicklungsganges und des Heranwachsens der Blätter sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen; teils wurden die Blätter zu verschiedenen Zeiten der Vegetationsperiode den Kulturen oder demselben Individuum entnommen, oder man verglich Blätter verschiedenen Alters, die gleichzeitig von der Pflanze abgenommen wurden. Sehr häufig nimmt während der Ausbildung der Blätter die Gesamtasche in Prozenten der Trockensubstanz ab, was darauf zu beziehen ist, daß die Menge der organischen Substanzen in einem viel rascheren Verhältnisse zunimmt als die Mineralsubstanzen, deren Quantität von einem bestimmten Zeitpunkte an, absolut genommen, fast konstant bleiben kann.

WOLFF und YELIN (3) fanden bei Weizenrassen an Reinasche in Prozenten der Trockensubstanz

	Rasse A	Rasse B
am 2. Mai	9,50%	10,0 %
„ 15. Juni	7,20%	6,9 %
„ 29. Juli	6,40%	6,20%

ferner PIERRE (4) für Winterweizen in zwei Versuchen:

Pflanzen in Schossen . . .	7,44%	. %	Reinasche
vor der Blüte	6,51%	7,98%	„
Anfang der Blüte	5,25%	5,24%	„
Ende der Blüte	5,07%	4,39%	„
Körner, noch weich	4,76%	3,57%	„
Körner, reif	4,68%	3,38%	„

Auch für andere Getreidearten wurde analoge Ergebnisse gefunden. Ferner fand GROSS (5) für Vitis vinifera

1) NEWCOMB u. HAYNES, Amer. Journ. Pharm., *87*, 112 (1915). — 2) RÖRDAM, Jahresber. landw. Hochsch. Kopenhagen, 1917, p. 107. — 3) E. WOLFF u. YELIN, zit. Aschenanalysen, *1*, 12. — 4) J. PIERRE, Compt. rend., *68*, 1526 (1868). — 5) GROSS, Dissert. Erlangen (1884).

am 26. April 3,64%
„ 10. Juli 2,03%
„ 20. Oktober 2,84% Reinasche in der Trockensubstanz.

Hier tritt infolge der Beendigung der assimilatorischen Tätigkeit im Herbst wieder ein Ansteigen des relativen Aschengehaltes hervor. Natürlich ist bei diesen Untersuchungen streng darauf zu sehen, daß der Gehalt an Assimilaten nicht durch die Tageszeit der Entnahme bei den Blättern willkürlich entstandene Verschiedenheiten aufweist. Es kommen dann auch Schwankungen im Aschenstoffgehalte, bei Verminderung der Assimilationstätigkeit, oder bei verstärkter Vermehrung der Aschenstoffzufuhr schließlich Ansteigungen im Mineralstoffgehalte der heranwachsenden Blätter zustande.

So fand NORTON (**1**) bei Avena:

am 4. Juni	10,83%	Reinasche in der Trockensubstanz
„ 11. „	10,79%	„ „ „ „
„ 18. „	9,07%	„ „ „ „
„ 25. „	10,95%	„ „ „ „
„ 2. Juli	11,35%	„ „ „ „
„ 9. „	12,20%	„ „ „ „
„ 16. „	12,61%	„ „ „ „

ARENDT (**2**) gewann bei Avena folgende Zahlen:

	3 untere Blätter	2 obere Blätter	
am 10. Juni	9,71%	7,78%	Reinasche in der Trockensubstanz
„ 30. „	9,49%	7,04%	„ „ „ „
„ 10. Juli	10,21%	6,97%	„ „ „ „
„ 21. „	10,25%	9,72%	„ „ „ „
„ 31. „	10,13%	10,51%	„ „ „ „

Solche Schwankungen treten auch hervor in den von DEETZ (**3**) für Lolium perenne gefundenen Werten, ferner in den Zahlen von DIETRICH (**4**) für Trifolium pratense, während sich in den WOLFFschen Resultaten für Solanum tuberosum (l. c., Bd. I, p. 75) eine andauernde Abnahme herausstellte. Für Turnips fand WUNDER, daß anfangs der absolute Gehalt an Aschenstoffen mit der Trockensubstanz zunimmt, sodann aber während der weiteren Trockensubstanzzunahme, auf das Frischgewicht bezogen, abnimmt:

Blätter	Trockensubst.	Reinasche darin	Reinasche in 100 g Frischsubst.
2 Wochen nach der Saat	8,24%	16,47%	1,3571
14 „ „ „ „	14,18%	12,96%	1,8377
17 „ „ „ „	14,26%	12,02%	1,7140
20 „ „ „ „	15,51%	10,41%	1,6145
23 „ „ „ „	13,72%	10,70%	1,4680

---

1) NORTON, zit. bei WOLFF, l. c., *1*, 26 (1847). — **2**) R. ARENDT, Landw. Vers.stat., *1*, 50 (1860). — **3**) R. DEETZ, Journ. Landw. (1873), p. 57. — **4**) G. TH. DIETRICH, zit. bei WOLFF, *1*, 64. Über Klee auch ULBRICHT, Landw. Vers.stat., *3*, 241; *4*, 1 (1862). Vicia sativa: SCHLEIDEN u. E. F. SCHMID, Pogg. Ann., *71*, 138 (1847). Turnips: WUNDER, Landw. Vers.stat., *3*, 19; *4*, 264 (1861). Ferner: BERTHELOT u. ANDRÉ, Ann. Chim. et Phys., *9*, 1, 145 (1896). Papaver: G. ANDRÉ, Compt. rend., *151*, 1378 (1910); *152*, 777 (1911); ebenda, p. 965, andere Anuelle (Spergula, Linum, Camelina): ANDRÉ, Ebenda, *156*, 1164 (1913).

In den Blättern von Cichorium Intybus konstatierte H. SCHULZ (1) in der ersten Zeit der Blattentwicklung eine Verminderung des Mineralstoffgehaltes bis zum 70. Tage nach der Aussaat, sodann Ansteigen in den ausgewachsenen Blättern, welches wohl durch die Zunahme von Zellhautgerüstsubstanzen bedingt ist.

Blätter	Trockensubst.	darin Reinasche	Reinasche in 100 g Frischgewicht
40 Tage nach der Saat	10,42%	14,21%	1,4806
50 " " " "	8,43%	13,51%	1,1389
60 " " " "	9,24%	12,67%	1,1707
70 " " " "	8,27%	12,42%	1,0271
80 " " " "	9,74%	12,87%	1,2250
90 " " " "	7,99%	11,79%	0,9422
100 " " " "	9,29%	11,17%	1,0376
110 " " " "	10,26%	10,71%	1,0988
120 " " " "	11,53%	10,30%	1,1876
130 " " " "	12,50%	10,49%	1,3112

Ein Reicherwerden an Aschenstoffen mit dem Älterwerden der Blätter stellte sich bei Beta vulgaris heraus. MÜLLER und MITTENZWEI (2) fanden für Runkelrübe:

	Asche in Proz. der Trockensubstanz	Asche in Proz. der Frischsubstanz	Trockensubstanz in Proz. d. Frischsubstanz
Im äußersten Blattkreise	19,35	1,431	7,45
" zweiten "	16,55	1,348	8,15
" dritten "	12,22	1,129	9,24
" vierten (Herz)	11,12	1,187	10,68

Analoge Resultate erhielten für Zuckerrübe BRETSCHNEIDER, KÜLLENBERG und METZDORFF (3).

Bei den Blättern von Holzpflanzen findet in der Regel auch in Prozenten der Trockensubstanz eine kontinuierliche Vermehrung der Gesamtaschenmenge statt. Für Fagus silvatica wurde dies durch ZÖLLER, RISSMÜLLER und DULK (4) festgestellt. RISSMÜLLER fand für den Aschengehalt der Blätter in Prozenten der Trockensubstanz:

	Mai	Juni	Juli	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.
Asche	4,67	5,20	7,45	9,03	8,90	10,80	11,42
Trockensubst. in Proz. der Frischsubstanz .	23,35	40,21	43,64	50,74	47,42	40,37	45,55

DULK fand dem korrespondierend:

	am 26. Mai Proz.	26. Juni Proz.	26. Juli Proz.	25. Aug. Proz.	26. Sept. Proz.	26. Okt. Proz.	7. Nov. Proz.
Trockensubstanz . . .	20,76	34,34	36,00	37,66	36,32	37,15	33,63
Reinasche darin . . .	4,68	3,95	4,78	5,52	5,58	5,91	6,39
Asche in 1000 g Frischgewicht	9,72	13,56	17,21	20,79	20,27	21,96	21,49

---

1) H. SCHULZ, Landw. Vers.stat., *9*, 203. — 2) A. MÜLLER u. MITTENZWEI, Journ. prakt. Chem., *70*, 257 (1860). — 3) Zit. in WOLFF, I, 86. — 4) ZÖLLER, in LIEBIG, Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur usw., 7. Aufl. (1862), *2*, 367. L. RISSMÜLLER, Landw. Vers.stat., *17*, 17 (1874). L. DULK, Ebenda, *18*, 192 (1875).

Hier ist also das Wachsen des Aschengehaltes mit zunehmendem Alter sehr stark. Vor allem geschieht dieses Anwachsen durch Vermehrung des Gehaltes an Kalk und Kieselsäure, also an Substanzen des Zellhautgerüstes.

Bei anderen Holzgewächsen konstatierten GRANDEAU und FLICHE (1) meist dasselbe Verhältnis:

		Trockensubstanz Proz.	darin Asche Proz.	Asche in 100 g Frischgewicht pro Mille
Robinia . . .	am 2. Mai	26,50	6,25	16,56
„ . . .	„ 3. Juli	35,90	7,75	27,82
„ . . .	„ 7. Sept.	44,3	8,22	36,41
„ . . .	„ 13. Okt.	44,6	11,74	52,36
Prunus avium	„ 28. April	30,0	7,80	23,40
„ „	„ 3. Juli	39,8	7,30	29,05
„ „	„ 7. Sept.	44,6	6,39	28,50
„ „	„ 2. Okt.	44,8	7,24	32,44
Betula alba. .	„ 30. April	32,5	3,84	12,48
„ „ . .	„ 14. Sept.	49,0	4,30	21,07
„ „	am 9.—15. Okt.	49,75	4,68	23,28
Castanea vesca	am 1. Mai	28,0	4,60	12,88
„ „	„ 16. Sept.	43,0	4,75	20,43
„ „	„ 12. Okt.	55,2	4,55	25,12

WEBER fand, daß Lärchennadeln im abgefallenen Zustande etwas mehr Asche in Prozenten der Trockensubstanz (3,99%) aufwiesen als die Nadeln vor dem Abfall (3,57%), was wohl auf die Verarmung an organischen Stoffen zu beziehen ist. Bei immergrünen Blättern wächst der Aschenstoffgehalt ohne größere Schwankungen durch mehrere Vegetationsperioden stetig heran. Es ist wohl sicher, daß hierbei die Ausbildung des Zellhautgerüstes eine Rolle spielt. An der japanischen Teepflanze haben KELLNER, MAKINO und OGASAWARA (2) diese Verhältnisse eingehend dargestellt. Es ergaben sich folgende Resultate:

	Trockensubstanz	Asche darin	Asche in 1000 g Frischsubstanz		
am 15. Mai	23,17	4,69	10,87	9,10	Rohfaser
„ 30. „	24,22	4,76	11,53	17,25	„
„ 15. Juni	21,39	4,88	10,44	17,38	„
„ 30. „	29,15	4,96	14,46	18,69	„
„ 15. Juli	27,33	4,29	11,72	19,16	„
„ 30. „	29,46	4,46	13,14	17,56	„
„ 15. Aug.	35,79	4,58	16,39	17,72	„
„ 30. „	32,25	4,98	16,06	17,95	„
„ 15. Sept.	34,74	4,85	16,85	19,13	„
„ 30. „	36,80	5,11	18,80	19,17	„
„ 15. Okt.	35,34	5,06	17,88	18,66	„
„ 30. „	36,99	5,07	18,75	18,40	„
„ 15. Nov.	40,67	5,00	20,33	18,26	„
„ 30. „	39,03	5,04	19,67	18,34	„
„ 15. Mai (alte Blätter)	39,97	5,14	20,54	17,62	„

1) Zit. bei WOLFF, *2*, 84 (1878). — 2) O. KELLNER, MAKINO u. OGASAWARA, Landw. Vers.stat., *33*, 370 (1887).

Wie man sieht, erreichen die Rohfaserzahlen, welche man gewöhnlich als ungefähres Maß der Ausbildung des Zellwandgerüstes ansehen darf, schon sehr bald ihre definitive Höhe. Da aber die Rohfaserbestimmungsmethoden die mineralischen Einlagerungen der Zellhaut zum guten Teile nicht mit berücksichtigen, so läßt sich die Meinung, daß die Vermehrung an Aschenstoffen hauptsächlich die Ausbildung der Zellwände betrifft, wohl aufrecht erhalten. Über Coniferennadeln verdanken wir SCHROEDER und DULK (1) Mitteilungen bezüglich Pinus silvestris und GRANDEAU und FLICHE (2) bezüglich Pinus austriaca. Die letztgenannten Autoren gaben folgende Zahlen:

		Trockensubstanz	Asche	Asche in 1000 g Frischsubstanz
Ganz jung	26./28. Juni	29,39	1,63	4,79
,, ,,	4./6. Sept.	29,30	1,84	5,36
,, ,,	22./23. Okt.	42,42	1,91	8,11
1 Jahr alt	3./4. Mai	44,90	1,81	8,13
1 ,, ,,	26./28. Juni	41,52	1,85	7,68
1 ,, ,,	4./6. Sept.	39,34	2,16	8,50
1 ,, ,,	22./23. Okt.	41,07	2,30	9,45
2 Jahre ,,	3./4. Mai	46,20	2,72	12,57
2 ,, ,,	26./28. Juni	44,71	2,30	10,28
2 ,, ,,	4./6. Sept.	41,60	2,86	11,90
2 ,, ,,	22./23. Okt.	42,43	2,59	11,00
3 ,, ,,	3./4. Mai	50,20	3,12	15,66
3 ,, ,,	26./28. Juni	49,31	2,62	12,92
3 ,, ,,	4./6. Sept.	44,69	3,82	17,07
3 ,, ,,	22./23. Okt.	55,53	3,28	18,21
4 ,, ,,	3./4. Mai	60,00	4,55	27,30

Hier und auch bei Pinus silvestris treten vorübergehende Depressionen des auf Trockensubstanzprozente gerechneten Aschengehaltes infolge der reichlichen Assimilation im Frühsommer ein. Daß die stetige Zunahme des Aschenstoffgehaltes bei ausdauernden Blättern die Regel darstellt, geht auch aus den Untersuchungen von BRIOSI (3) hervor, wonach das Maximum an Gewicht von organischen Stoffen (bezogen auf die Einheit der Blattfläche) schon im ersten Jahre erreicht wird, während der Maximalgehalt an Aschenstoffen erst nach mehreren Vegetationsperioden eintritt. Eine Ausnahme bildeten hiervon die Blätter von Eucalyptus, Ceratonia und Quercus Ilex.

Auch bezüglich der Frage, ob ein Rückströmen von Aschenstoffen vor dem Abwerfen der Blätter am Schlusse der Vegetationsperiode stattfindet, hat man natürlich auf die absoluten Werte der Mineralstoffmenge Gewicht zu legen und darf nicht aus einer Abnahme der Aschenstoffprozentzahlen in der Trockensubstanz Schlüsse ableiten, wie es öfter geschehen ist und WEHMER (4) mit Recht gerügt hat. Die Feststellungen der Gesamtaschenmengen haben zu dem Ergebnisse geführt, daß ein kleiner Abfall der Mineralsubstanzen (absolut gerechnet) vor dem Abwerfen der Blätter zu verzeichnen ist. So fanden TUCKER und TOLLENS (5) in 500 Blättern

1) J. SCHROEDER, Tharandter forstl. Jahrb., *25*, 29 (1875). DULK, Landw. Vers.stat., *18*, 210 (1875). — 2) GRANDEAU u. FLICHE, Annal. Stat. Agron. de l'Est (1878), p. 97. Für Pinus Strobus vgl. H. SERTZ, Mitt. sächs. forstl. Vers.anstalt Tharandt, I, 80 (1918). — 3) G. BRIOSI, Intorno alle sostanze minerali nelle foglie etc., Milano 1888. — 4) C. WEHMER, Landw. Jahrb., *21*, 513 (1892); Ber. bot. Ges., *10*, 152 (1892). — 5) G. M. TUCKER u. B. TOLLENS, Ber. chem. Ges., *32*, 2575 (1899). Vgl. auch die Kritik von B. SCHULZE, Verh. Nat. Ges. (1904), II, *1*, 175.

von Platanus folgende Veränderungen in Gehalt an Trockensubstanz und Reinasche:

am 13 Juni . . .	142,5284 g	Trockensubstanz	und	8,6985 g	Reinasche
„ 15. Juli . . .	184,6968 g	„	„	14,6187 g	„
„ 22. August . .	182,7988 g	„	„	17,8137 g	„
„ 7. Sept.. . .	193,8481 g	„	„	20,1175 g	„
„ 8. Oktober .	196,2402 g	„	„	21,3332 g	„
„ 24. Oktober . (nicht gedeckt)	148,8130 g	„	„	17,9706 g	„
am 24. Oktober . (gedeckt)	152,8367 g	„	„	19,3781 g	„
„ 5. November (nicht gedeckt)	166,0675 g	„	„	20,3449 g	„

Eine eingehende Diskussion früher erzielter Ergebnisse auf diesem Gebiete hat WEHMER geliefert. Schon deshalb, weil die Zunahme der Aschenstoffe in vorgerückterem Lebensalter der Blätter hauptsächlich auf Rechnung des Ca und Si-Gehaltes erfolgt, können andere Aschenstoffe, besonders K und PO_4 absolute Abnahme aufweisen. Ob eine wirkliche Rückwanderung von Aschenstoffen in die holzigen Achsenorgane erfolgt, müssen künftige Untersuchungen endgültig entscheiden. Keinesfalls lassen sich aber aus den Wasserkulturversuchen von NOBBE und COUNCLER (1) an Acer Negundo Gegenbeweise daraus ableiten, daß hier in den abgefallenen Herbstblättern mehr Reinasche (21,29%) vorhanden war, als bei Pflanzen, die in Erde wurzelten (13,29%). Die Asche von Wasserkulturpflanzen enthielt 12,21% P_2O_5 und 45,52% K_2O, jene der Bodenpflanzen nur 3,43% P_2O_5 und 33,91% K_2O. Es ist fraglich, ob die Verhältnisse dieser Wasserkulturpflanzen unbedingt als normale anzusehen sind. KAÉRIYAMA (2) hob hervor, wie reichlich wichtige Aschenstoffe mit den fallenden Blättern der Pflanze verloren gehen. WEHMER war geneigt, bei dem Aschenstoffverlust der Herbstblätter an Auslaugung durch atmosphärische Niederschläge zu denken. Seither sind von ANDRÉ (3) analytische Bestimmungen über die aus Castanea-Blättern in verschiedenen Entwicklungsstadien durch Auslaugen entfernbaren Mineralstoffe ausgeführt worden. Die Blätter gaben besonders PO_4 und K_2O ab, um so mehr je jünger sie waren, das Kali konnte in kurzer Zeit fast ganz entzogen werden. Mg trat weniger aus, am wenigsten aber Kalk. Zugunsten der Rückwanderungstheorie haben sich in neuerer Zeit mehrere Autoren geäußert. FRUHWIRTH und ZIELSTORFF (4) kamen auf Grund ihrer Versuche an Hopfen zur Meinung, daß K und PO_4 aus den Blättern vor dem Laubfall zurückgehen. L. RICHTER (5) vertritt dieselbe Meinung und gibt nachstehende Zahlen für die Aschenstoffbewegung in Kirschbaumblättern (für 100 Blätter in Grammen):

	14. Juli	31. Juli	18. Aug.	4. Sept.	24. Sept.	7. Okt.	27. Okt.
Trockensubstanz	25,146	21,691	23,883	25,602	26,049	27,367	17,247
K_2O	0,603	0,590	0,603	0,572	.	0,524	0,376
CaO.	0,727	0,791	0,892	0,939	.	1,100	0,765
P_2O_5.	0,166	0,158	0,155	0,140	.	0,139	0,056
Asche	2,494	2,568	2,814	2,920	.	3,214	2,215

1) C. COUNCLER, Landw. Vers.stat., *29*, 241 (1883). — 2) N. KAÉRIYAMA, Botan. Literaturbl. (1903), p. 365. — 3) G. ANDRÉ, Compt. rend., *155*, 1528 (1912); *156*, 564 (1913); *158*, 1812 (1914). Vgl. auch Ebenda, *142*, 249 (1906); BERTHELOT, Ebenda, *141*, 793 (1905); *142*, 249 (1906). Besonders auch L. MAQUENNE u. E. DEMOUSSY, Ebenda, *158*, 1400 (1914). — 4) C. FRUHWIRTH u. W. ZIELSTORFF, Landw. Vers.stat., *55*, 9 (1901). SEISSL, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *7*, 39 (1904), für Polygonum sachalinense. — 5) L. RICHTER, Landw. Vers.stat., *73*, 457 (1910).

Am schärfsten tritt, wie man sieht, der Rückgang bei der Phosphorsäure hervor. RAMANN (1), der gleichfalls sein Urteil zugunsten der Rückwanderungslehre abgibt, findet, daß in der Regel PO_4 in erheblicher Menge wandert, während die Ca- und Si-Verbindungen in den absterbenden Blättern sehr stark zunehmen. Er betont auch, daß sich während des Vergilbens der Blätter dieser Vorgang in relativ kurzer Zeit vollzieht. Ähnliche Ergebnisse hatte auch die eingehende Studie von SWART (2); nach diesem Forscher ist der Verlust der Laubblätter kurze Zeit vor dem Abfall während der Verfärbung an N, PO_4, K recht bedeutend und läßt sich nur durch Rückströmen in die Achsen erklären. Mg und Fe bleiben erhalten, Ca, Si, S, Cl nehmen vor dem Laubfall wenig oder gar nicht zu, woraus man auf eine Abnahme der Mineralstoffaufnahme aus dem Boden in dieser Zeit schließen kann Da wir wissen, daß die PO_4 an der Konstitution der Stärkekolloide nachweisbar Anteil nimmt (nach THOMAS (3) kann der P-Gehalt der Stärke bis zu 0,1227% betragen), und Kali gleichfalls in der Kolloidchemie der Zelle eine wichtige Rolle spielt, so ist es leicht denkbar, daß diese Mineralstoffe in die Bewegung der wichtigen organischen Materialien stark eingreifen. Nach RIPPEL (4) tritt aber die Abwanderung des K schon so frühzeitig ein, daß von einem Zusammenhang mit der herbstlichen Vergilbung nicht die Rede sein kann. Durchschneiden des Primärnerven oder Ringelung der Achse verursachte keine Stockung im Abtransport von PO_4, K und N. Im übrigen stimme ich der abwartenden Haltung von COMBES (5) in dieser Frage zu.

Die Blattrippen erwiesen sich häufig aschenstoffreicher als das Mesophyll; so fand DAHLEN (6) für

	Grünkohl	Rotkraut	Weißkraut	Lactuca	
in Mesophyll	7,33	6,86	6,83	13,01	Prozent Asche in der Trockensubstanz
in Rippen	7,12	9,01	9,09	17,07	

Albinotische Blätter von Quercus rubra wurden von CHURCH (7) untersucht, und enthalten nach diesen Angaben prozentisch weniger Trockensubstanz, weniger organische Stoffe und mehr Mineralstoffe als grüne Blätter derselben Pflanze.

	Wasser	Trockensubstanz	organische Stoffe	Aschenproz. d. Frischsubst.	Aschenproz. d. Trockensubst.
albinotisch	72,69	27,31	24,65	2,66	9,74
grün . . .	58,08	41,92	40,33	1,59	3,79

Näherer Einblick in diese Verhältnisse fehlt aber noch.

Wiederholt ist angegeben worden, daß die Blätter der Forstbäume in höheren Gebirgslagen weniger Aschenstoffe in ihrer Trockensubstanz enthalten, als in tieferen Lagen. So gibt Weber (8) von Larix an, daß Bäume in 117 m Meereshöhe 6,02% Asche, in 1068 m Höhe aber 2,49% Aschenstoffe in Rrockensubstanz ihres Laubes enthielten. Das gleiche wurde von Fagus silvatica angegeben: bei 272 m 4,61% Asche, bei 1370 m 3,94% Asche. Doch ist die Deutung dieser Erfahrung keineswegs sicher.

---

1) E. RAMANN, Landw. Vers.stat., *76*, 157 u. 165 (1912). H. BAUER, Naturw. Ztsch. Forst- u. Landw. (1911), p. 409. — 2) N. SWART, Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern, Jena 1914. — 3) A. W. THOMAS, Biochem. Bull., *3*, 403 (1914). — 4) A. RIPPEL, Jahresb. Ver. angew. Botan., 1918, *14*, 123 (1919). — 5) R. COMBES, Rev. gén. Botan., *23*, 129 (1911). — 6) DAHLEN, Landw. Jahrb. (1874), p. 321. — 7) A. H. CHURCH, Journ. Chem. Soc. (1886), I, 839. — 8) WEBER, Just (1873), p. 508; WOLFF, Aschenanalysen, *2*, 74, 89, 94.

Schattenblätter von Fagus silvatica sind nach LEININGEN (1) aschenreicher als die Sonnenblätter; sie enthalten mehr K, N, P, SO_3, Cl, auch Fe, Ca, Mg sind mehr angehäuft. Den Mineralstoffgehalt von Baumblättern zur Tag- und Nachtzeit untersuchte RAMANN (2). Nur Kalk zeigte eine deutliche Differenz, und war prozentisch zur Trockensubstanz vermehrt bei Nacht. Den Schluß des genannten Forschers, daß deshalb der Kalk eine Bedeutung bei der Fortleitung der Kohlenhydrate besitzt, ist nicht bindend, da solche Ergebnisse vielerlei Ursachen haben können.

Eine Anzahl von Beobachtungen bezieht sich auf den Mineralstoffgehalt von etiolierten Pflanzen im Vergleich zu grünen. WEBER (3) fand zuerst für Pisum, daß etiolierte Pflanzen prozentisch weniger Aschenstoffe in der Trockensubstanz führen, als grüne Vergleichspflanzen, und daß besonders im Kalkgehalte der Asche ein namhafter Unterschied zu ungunsten der etiolierten Exemplare besteht. Die unter farbigen Gläsern angestellten Kulturen WEBERS blieben ohne entscheidendes Ergebnis hinsichtlich der Variation des Aschenstoffgehaltes der Blätter. Die Resultate WEBERS wurden später wiederholt bestätigt [GODLEWSKI, JUMELLE, PALLADIN, ANDRÉ (4)]. So gab JUMELLE für Lupinus folgende Zahlen für den Reinaschegehalt in Grammen:

	Stengel	Cotyledonen	Hypocotyl	Wurzel
grün .	0,035 g	0,015 g	0,009 g	0,007 g
etioliert	0,005 g	0,012 g	0,027 g	0,006 g

Die meisten Werte wurden leider nur in Prozenten der Trockensubstanz geliefert.

	Blätter	grün	etioliert	
Triticum	13d	10,75%	9,41%	PALLADIN
Vicia Faba	25d	10,30%	7,54%	

Übrigens hat nach den Feststellungen von ANDRÉ die Temperatur, bei welcher die etiolierten Pflanzen erwachsen, einen sehr namhaften Einfluß auf den Effekt des Versuches. Während etiolierte Pflanzen bei 15° C stets einen niedrigeren Aschengehalt aufwiesen, als normale Pflanzen, erwies sich der Mineralstoffgehalt von etiolierten Pflanzen (Mais, Lupine) bei 30° C höher als der Aschengehalt in der Trockensubstanz normaler Pflanzen. Dies soll wesentlich auf einen Mehrgehalt an Kieselsäure beruhen, Kalkarmut war bei etiolierten Pflanzen wohl immer zu konstatieren. Deswegen zeigen sich nach CUBONI (5) in etiolierten Vitisblättern die Drusen von oxalsaurem Kalk viel sparsamer entwickelt; vergeilte Blätter von Urticaceen weisen in ihren Cystolithen viel weniger Kalk auf, oder bringen selbst keine Cystolithen hervor, und auch die Kalkhaare der Boragaceen sind an etiolierten Blättern viel ärmer an Kalk (CHAREYRE) (6).

Einfache Beziehungen zwischen Aschengehalt der Laubblätter und der dargereichten Düngerquantität haben sich in den zahlreichen analytischen Untersuchungen über den Einfluß der Düngung nicht ergeben. Steigerung

---

1) W. GRAF ZU LEININGEN, Naturw. Ztsch. Land- u. Forstw., *3*, 207 (1905). — 2) E. RAMANN, Jahrb. wiss. Botan. *50*, 84 (1911). SHEDD, Journ. Agr. Res., *5*, 529 (1915), fand den Blättersaft bei Acer und Ampelopsis nachts mineralstoffärmer als tagsüber. — 3) R. WEBER, Landw. Vers.stat., *18*, 18 (1875). — 4) GODLEWSKI, Botan. Ztg. (1879), p. 97. JUMELLE, Rev. gén. Botan. (1889). W. PALLADIN, Ber. botan. Ges., *10*, 179 (1892). G. ANDRÉ, Compt. rend., *130*, 1198 (1900); *134*, 668 (1902). — 5) CUBONI, Botan. Zentr., *17*, 332 (1884). — 6) CHAREYRE, Compt. rend., *96* (1883); Botan. Ztg. (1884), p. 526.

des Mineralstoffgehaltes bei gesteigerter Zufuhr verschieden zusammengesetzter mineralischer Nahrung kann wohl vorkommen, und wurde wiederholt festgestellt; doch bleibt diese Wirkung in anderen Fällen wieder aus. Einschlägige Versuche sind in den Zusammenstellungen WOLFFS in größerer Menge einzusehen, worauf mangels einer besseren Einsicht in die physiologischen Beziehungen hier verwiesen sei; leider sind, wie in den meisten anderen Fällen, meist nur die relativen Verhältnisse zwischen Trockensubstanz und Aschenstoffen sowie der Mineralsubstanzen untereinander angegeben, und die absoluten Werte nicht zu ersehen.

Bei einem Vergleiche der Blätter und Stengel von Dianthus-Formen mit biegsamem und steifem Stengel fanden FONDARD und GAUTHIÉ (1) in dem Mineralstoffgehalt der Blätter keinen besonderen Unterschied, nur etwas mehr K_2O bei den steifen amerikanischen Sorten und weniger Ca und PO_4. Die steifen Stengel enthielten viel mehr N, K, PO_4 und weniger Ca als die biegsamen französischen Nelken im Stengel

Auf die pathologischen Abweichungen im Aschengehalt soll weiter nicht eingegangen werden. Hinsichtlich des Mineralstoffgehaltes der Gallen seien Zahlen von STOCKERT und ZELLNER (2) angeführt:

	Quercus sessiliflora jung. Zweig	Quercus sessiliflora Gallen	Cynips tinct.	Blätter	Cynips folii, Gallen	Rosa canina Zweig	Rosa canina Gallen von Rhodites
Asche	2,24	3,02	2,72	6,06	1,48	2,98	2,50
davon unlösliche . .	59,03	35,50	23,98	79,59	12,75	68,63	32,51
Mn_3O_4 in Proz. der Asche	3,98	1,61	1,25	0,31	3,98	0,00	0,00
Extraktasche	1,49	2,85	2,69	3,24	1,33	1,73	1,37

Übrigens tritt die Verarmung der Blätter an Asche aus ganz anderen Ursachen auch bei sonstigen parasitären Erkrankungen von Laubblättern zutage; PIGORINI (3) fand bei Morus-Blättern, die von Diaspis befallen waren, 10,54 % Asche gegen 12,7 % im gesunden Zustande.

§ 2.

Die einzelnen Mineralstoffe.

Eine Auswahl neuerer Analysen möge die Gesamtverteilung der Aschenbestandteile in Laubblättern vor Augen führen:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Mn_3O_4	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	Cl	SiO_2
1. Fraxinus excelsior (Juni)	2,55	0,16	6,67	1,42	0,02	0,02	0,95	0,4	0,19	0,74
2. Viola odorata, Blüten .	37,14		2,10	4,89		18,95	8,96			
Blätter .	31,67		5,20			15,45	6,214			
3. Vitis cordifolia . . .	14,71	1,53	30,9	5,74	·	0,92	9,7	2,72	·	5,89
4. Delphinium Geyeri . .	22,42	1,88	24,49	0,05	·	5,36	1,26	3,26	0,42	11,88
5. Zygadenus intermedius .	20,64	5,58	25,37	5,34	Spur	1,03	5,03	2,89	0,3	4,39

Analyse 1 stammt von RAMANN und GOSSNER (4), 2 von MARCHETTI (5), 3 von SHEDD und KASTLE (6), 4 und 5 von HEYL, HEPNER und LOY (7).

---

1) L. FONDARD u. F. GAUTHIÉ, Compt. rend., *151*, 502 (1910). — 2) K. R. v. STOCKERT u. J. ZELLNER, Ztsch. physiol. Chem., *90*, 495 (1914); ZELLNER, Ebenda. *101*, 255 (1918). — 3) L. PIGORINI, Atti Real. Jst. Veneto Sci., *73*, II (1913/14). — 4) E. RAMANN u. B. GOSSNER, Landw. Vers.stat. *76*, 117 (1912). — 5) G. E. MARCHETTI, Staz. Sper. Agr. Ital., *40*, 234 (1907). — 6) O. M. SHEDD u. J. H. KASTLE, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 1415 (1912). — 7) F. W. HEYL, HEPNER u. LOY, Ebenda, *35*, 880 (1913); HEYL u. HEPNER, Ebenda, p. 810.

Analysen verschiedener Pflanzen von KEEGAN (1):

in Proz. der Gesamtasche an	löslichen Bestandteilen	K u. Na	CaO	MgO	PO_4	SO_3	SiO_2	Cl	Fe+Mn
Phalaris arundinac. . .	35,7	nicht angegeben	10,2	4,8	6,7	6,1	37,5	12,3	2,0
Lythrum Salicar. . . .	25,6		32,0		3,5	9,5	4,4	4,6	3,0
Senecio Jacobaea . .	41,0		23,4	3,2	5,15	8,5	4,1	9,6	wenig
Alliaria officin. . . .	56,4		14,8	3,5	9,5	12,1	3,1	6,3	wenig
Vicia Cracca	19,0		40,6	3,8	4,0	2,5	2,2	2,2	wenig
Menyanthes trifol. . .	38,9		20,2	4,5	7,1	6,8	4,1	Spur	5,0
Orchis mascula. . . .	47,3		20,5	3,8	7,8	3,8	5,2	7,8	3,0
Caltha palustr.	43,5		19,1	4,0	5,5	5,3	6,5	8,7	Spur
Primula vulgar. . . .	61,9		12,2	3,4	4,2	4,3	6,3	17,2	5,0
Rumex sanguin. . . .	46,3		17,5	5,3	6,2	3,3	7,3	5,4	5,8
Narcissus Pseudonarc.	61,4		10,1	3,6	5,0	4,0	3,3	9,8	viel Mn

Für Gemüseblätter gelten nachfolgende von HAENSEL (2) ermittelte Werte:

	in Proz. der Trockensubstanz			in Proz. der Asche	
	Asche	P_2O_5	Fe_2O_3	P_2O_5	Fe_2O_3
Endivie	12,3	1,27	0,4	10,566	3,2528
Kopfsalat	15,3	1,7324	0,69	11,32	4,51
Winterkohl	9,72	1,186	0,324	12,20	3,333
Spinat	20,52	1,8633	0,45	8,19	2,1937
Kohlrabiblätter	10,22	0,9947	0,37	9,73	3,6277
Sellerieblätter.	12,84	1,1986	0,272	9,335	2,1183
Weißkraut	6,968	0,8289	0,036	11,015	0,5166
Rotkraut.	6,48	0,7014	0,022	10,810	0,3395
Wirsing	6,34	0,7550	0,058	12,054	0,9148

Im Vegetationsgang der Gerste fand ANDRÉ (3) Ansteigen der Phosphorsäure bis zur Reife, ebenso Zunahme von K_2O und Na_2O bis zur Vollreife. Ca und Mg zeigten vor der Blütezeit Abnahme, SO_3 vor der Vollreife eine geringe Abnahme. Auch bei Papaver fand ANDRÉ (4) ein Maximum von PO_4 und Kali vor der Fruchtbildung und Abnahme von Ca und Mg im relativen Verhältnis, im ganzen keinen Verlust an fixen Bestandteilen.

Fruchtzweige von Pirus communis ergaben in Analysen von MANARESI und TONEGUTTI (5) mehr N, P, K, weniger Si und Ca als Blatttriebe, während bei Pirus Malus und Prunus domestica mehr P und K in den Blättern der letzteren war.

Der Kaligehalt der Laubblätter ist charakteristischerweise regelmäßig ein sehr hoher und pflegt 30—50% der Reinasche auszumachen, so daß die Laubblätter neben den Samennährgeweben zu den kalireichsten Pflanzenorganen zu rechnen sind. Die in manchen Analysen sich ergebenden niedrigen prozentischen Werte für Kali haben öfters ihren Grund in einem hohen Kieselsäure- oder auch Kalkreichtum der Blätterasche, und daß der absolute Wert für Kali auch hier kein niedriger ist, lehrt die hohe Zahl für den Gehalt an Gesamtasche. In anderen Fällen endlich drückt ein hoher Kochsalzgehalt der Asche den Prozentwert für Kali herab. Aus den bei

---

1) KEEGAN, Chem. News, *112* 203 (1915); *112*, 295 (1915); *113*, 85 (1916); *114*, 74 (1916). — 2) E. HAENSEL, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909). — 3) G. ANDRÉ, Compt. rend., *154*, 1627 u. 1817 (1912). — 4) ANDRÉ, Ebenda, *152*, 965 (1911). — 5) A. MANARESI u. M. TONEGUTTI, Staz. Sper. Agr. Ital., *43*, 786 (1910).

WOLFF gegebenen zahlreichen Analysenzahlen seien als hohe Kaliwerte hervorgehoben:

Luzula maxima . . .	48,06% K_2O	Phaseolus vulgaris. .	41,55% K_2O
Bromus unioloides. .	56,94% ,,	Vicia Faba	53,75% ,,
Genista tinctoria . .	42,84% ,,	Lilium candidum . .	41,26% ,,
Vitis vinifera	40,26% ,,	Adonis aestivalis . .	48,76% ,,
Camellia Thea . . .	39,98% ,,	Colchicum autumnale	48,27% ,,
Achillea Millefolium .	47,81% ,,	Majanthemum bifol. .	55,70% ,,
Zea Mays	53,20% ,,	Centaura Cyanus . .	52,84% ,,

In Erodium cicutarium 43,9—44,1% Kali (1).

Die Zuckerrübe enthält nach ANDRLIK und URBAN (2) bei höherem Zuckergehalt der Wurzel in den Blättern mehr K und PO_4, aber weniger als in den Wurzeln, am wenigsten Kali in den Blattstielen. Das Natron ist gerade umgekehrt verteilt. Hellgefärbte Zuckerrübenblätter sind nach URBAN (3) kaliärmer als dunkelgrüne, während der Na-Gehalt viel kleinere Differenzen zeigt. Die von STOKLASA (4) vertretene Hypothese von der Bedeutung des Kali als CO_2-bindendes Agens in der Chlorophylltätigkeit dürfte aber einer kritischen Prüfung nicht standhalten.

Die Schwankungen des Kaligehaltes werden infolge des verschiedenen Anteiles, welchen andere Bestandteile an der Zusammensetzung der Asche nehmen, ziemlich bedeutend gefunden. Nach WOLFF (l. c., Bd. II, p. 135) schwanken die Kaliwerte bei Solanum tuberosum von 6,4—42,8%, bei Beta vulgaris von 9,0—45,9%, bei Brassica Rapa von 12,3—36,7%, Daucus Carota 7,7—22,3%, Cichorium Intybus 11,5—60%, bei Nicotiana Tabacum nach KOSUTANY (5) von 10—43%.

Reichliche Kalidüngung kann den Kaligehalt der Laubblätter direkt erhöhen, anscheinend besonders bei normal NaCl-reichen Gewächsen. HABEDANK (6) fand bei Düngung von Futterrunkelrübe mit rohem Kaliumsulfat:

	K_2O	Na_2O	Reinasche in Proz. der Trockensubstanz	Trockensubstanz Proz.	Asche in Proz. der Frischsubst.
Blätter ungedüngt	16,30	25,50	13,94	8,25	1,15
Düngung 1 Zentner K_2SO_4	34,96	14,05	14,17	8,89	1,26
,, 2 ,, ,,	32,92	17,33	13,71	8,39	1,15
,, 3 ,, ,,	30,64	17,67	18,67	7,82	1,46

Nach KERPELY (7) soll selbst Bespritzen der Blätter bei Nicotiana mit Kalisalzlösungen günstige Erfolge erzielen.

Während des Lebenslaufes der Blätter sehen wir meist den Kaligehalt dauernd zunehmen, was sich in den absoluten Zahlen deutlich ausprägt. Da sich die Blätter rasch an organischen Stoffen anreichern, bildet das Kali in den jüngsten Blättern den größten Anteil in der Trockensubstanz, und indem die Blätter während ihrer Entwicklung sehr viel Kalk, auch Kieselsäure, aufnehmen, nimmt das Kali an der prozentischen Zusammensetzung

1) WASICKY, Wien. klin. Woch.sch., *32*, 1 (1919). — 2) K. ANDRLIK u. J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm. *34*, 75 (1910). — 3) URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *42*, 281 (1918). — 4) J. STOKLASA, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *11*, 52 (1908); *15*, 711 (1912); Bl. f. Zuckerrüb.Anbau, *21*, 5 (1914). — Kritik: TH. WEEVERS, Rec. trav. botan. Néerland., *8*, 289 (1911). — 5) KOSUTANY, Just (1881), I, 39. — 6) H. HABEDANK (1870), zit. bei WOLFF, II, 43. — 7) C. KERPELY, Botan. Zentr., *126*, 639 (1914).

der Reinasche trotz der absoluten K-Zunahme einen immer geringer werdenden Anteil. Als Beispiel, wie sich die absoluten Kaliwerte während der Vegetationsperiode stellen, seien die durch TUCKER und TOLLENS für 500 Platanusblätter ermittelten Zahlen angeführt:

	Trockensubstanz	Reinasche	K_2O	Na_2O
am 13. Juni	142,5284	8,6985	1,9483	0,3152
„ 15. Juli	184,6968	14,6187	2,1055	0,4187
„ 22. Aug.	182,7988	17,8137	2,123	0,4299
„ 7. Sept.	193,8481	20,1175	2,2313	0,5641
„ 8. Okt.	196,2402	21,3332	1,5658	0,2898
„ 24. Okt. (ungedeckt)	148,8130	17,9706	0,9937	0,2439
„ 24. Okt. (gedeckt)	152,8367	19,3781	1,099	0,3211
„ 5. Nov. (ungedeckt)	166,0675	20,3449	0,8872	0,2273

Erst zum Ende der Vegetationsperiode zeigt sich eine ansehnliche Verminderung, welche möglicherweise als Rückströmen in die Speichergewebe der Zweige zu deuten ist. Das Natron zeigt diese Verhältnisse nur schwach ausgeprägt.

Schon weniger zutreffend wird das Bild, wenn man die Reinaschemenge und Kalimenge in Prozenten des Frischgewichtes ausdrückt, doch erscheint hier noch immer das stetige Anwachsen der Kalimenge ersichtlich. So in den Zahlen von DULK für Fagus silvatica: In 1000 g Frischgewicht von Buchenblättern waren enthalten:

	am 26. Mai	26. Juni	26. Juli	25. Aug.	26. Sept.	26. Okt.	7. Nov.
Reinasche .	9,72	13,56	17,21	20,79	20,27	21,96	21,49
Kali . . .	3,15	4,14	4,23	5,14	5,02	7,72	4,43

GRANDEAU und FLICHE fanden in 1000 g Frischsubstanz der Blätter bei Robinia am 2. Mai 5,067; 3. Juli 5,341; 7. September 2,410; 13. Oktober 1,701 Teile Kali; bei Prunus avium am 28. April 7,67; 3. Juli 5,17; 7. September 3,46; 2. Oktober 3,83 Teile Kalium usw. Der Abfall an Kali zeigt sich erst knapp vor dem Ende der Vegetationszeit ausgeprägt. Dieselben Autoren geben noch analoge Daten für Castanea und Betula; in den Zahlen von BRETSCHNEIDER und KÜLLENBERG (WOLFF I, 109) zeigt sich für Linum ein kontinuierliches Ansteigen des Kali bis zum Schluß. Auch sind die Daten von WUNDER (1) für Turnips und von SCHULZ (2) für Cichorium zu vergleichen, sowie jene von BRETSCHNEIDER (zit. bei WOLFF I, 86) für Zuckerrübe.

Rechnet man das Kali, wie es in den vorhandenen Analysen so vielfach geschah, in Prozenten der Reinasche, so stellt sich ein stetiger Abfall heraus, weil andere Aschenstoffe, besonders Kalk, rascher zunehmen als das Kali. So verringerte sich der Prozentgehalt der Asche von Solanum tuberosum-Blättern nach WOLFF (I, 75) vom 1. Juli zum 2. Oktober von 31,3 auf 6,38 %, jener der Zuckerrübenblätter nach BRETSCHNEIDER und METZDORFF (WOLFF I, 87) vom 20. Juli bis 16. Oktober von 17,75 auf 12,62 %,

---

1) G. WUNDER, Landw. Vers.stat., *3*, 191 (1861). — 2) H. SCHULZ, Ebenda, *9*, 203.

der Kaligehalt der Asche der zwei oberen Blätter von Avena sativa in den Versuchen von ARENDT (1) vom 10. Juni bis 31. Juli von 50,42 auf 24,81 %.

Speziell für Getreidearten erbrachte PIERRE (2) den Nachweis der stetigen Kalizunahme bis zur Fruchtreife, und für Mesembryanthemum und Sedumarten kam ANDRÉ (3) zu demselben Ergebnis.

Auch bei mehrjährigen Blättern tritt nach den Erfahrungen von SCHROEDER, DULK, GRANDEAU und FLICHE das Verhältnis zutage, daß der Kaligehalt (absolute Zahlen liegen nicht vor, nur Werte für den Kaligehalt von 1000 g frischer Blattsubstanz) im ersten Jahre stetig zunimmt und mit geringen Schwankungen während der ganzen Lebensdauer der Blätter erhalten bleibt. In Prozenten der Reinasche gerechnet, nimmt auch hier der Kaligehalt infolge des Anwachsens anderer Aschenbestandteile stetig ab. Nach DULK enthielten Nadeln von Pinus silvestris:

	Trocken-substanz	Asche darin Proz.	K_2O darin Proz.	Asche und K_2O in 1000 g Frischgewicht	
am 5. Juli 1 jähr.	29,27	2,08	38,59	6,09	2,35
„ 5. „ 2 „	48,35	1,56	25,14	7,54	2,39
„ 5. „ 3 „	48,39	1,85	21,64	8,95	1,63
„ 5. „ 4 „	49,31	2,08	17,97	10,26	1,84
„ 27. Okt. 1 „	37,02	2,41	38,87	8,92	3,47
„ 27. „ 2 „	40,44	2,31	30,86	9,34	2,88

Nach den bei WOLFF mitgeteilten Analysen ergab es sich in einigen Fällen, daß die Meereshöhe des Standortes Einfluß auf die Größe des Anteils des Kali an der Zusammensetzung der Blätterasche nahm; ob tatsächlich derartige Befunde regelmäßig vorkommen, wäre noch zu bestätigen.

Die albinotischen Blätter von Quercus rubra, welche CHURCH untersuchte, enthielten in ihrer Asche prozentisch viel mehr Kali und viel weniger Kalk als die grünen Blätter; auch in Prozenten der Frischsubstanz ergab sich eine K-Vermehrung in den weißen Blattstellen.

Grün . . .	29,10% K_2O der Reinasche	0,46% K_2O der Frischsubstanz
Albinotisch	42,38% „ „ „	1,13% „ „ „

Im Zusammenhange mit dem verminderten Kalkgehalt wird auch bei etiolierten Blättern der Kaligehalt etwas höher angegeben als in normalen grünen Blättern. Welche Rolle das Kali im Stoffwechsel und in den Funktionen der Laubblätter übernimmt, läßt sich derzeit in keiner Weise bestimmen. Daß Ansichten, wie jene von STOKLASA, über die Rolle des Kali als CO_2-Bindemittel und Kondensationsmittel des bei der Chlorophylltätigkeit entstehenden Formaldehyds ebenso schwankend sind, wie jene von MITTELSTAEDT (4), welcher im Kali die „Funktion eines Kraftüberträgers" erblickt, welchem die Kondensation des Formaldehyds zu Zucker und Stärke obliegt, braucht keine nähere Ausführung; aber auch WEEVERS Ansicht, daß das Kali beim Eiweißumsatz mitwirke, ist nur eine in allgemeiner Form geäußerte Hypothese.

Natron ist ein ganz regelmäßiger Bestandteil der Laubblattasche, wenn auch seine Quantität nicht selten bis unter 0,01 % der Reinasche

1) R. ARENDT, Landw. Vers.stat., *1*, 50 (1860). — 2) J. PIERRE, Compt. rend., *68*, 1526 (1868); Ber. chem. Ges., *3*, 35 (1870); Ann. agron., *2*, 59 (1876); Biedermanns Zentr. Agrik. Chem., *10*, 266 (1876). — 3) G. ANDRÉ, Compt. rend., *137*, 1272 (1903). — 4) O. MITTELSTAEDT, Chem. Zentr. (1896), II, 632.

herabsinkt. 1—3% Na_2O in der Reinasche ist in den Aschenanalysen von Blättern die gewöhnlichste Angabe. Doch steigt der Gehalt auch bei Nicht-Halophyten öfters bis auf 5—10% hinauf. Aus den bei WOLFF mitgeteilten Analysen seien als höhere Natronzahlen folgende namhaft gemacht:

	Na_2O		Na_2O
Bambusa arundinacea . .	12,77%	Spinacia oleracea	39,16%
Daucus Carota	30,80%	Zuckerrübe	39,26%
Cichorium Intybus	28,08%	Mangold in der Nähe des Meeres	41,89%
Brassica Rapa	20,26%	Senecio vulgaris	18,55%
Scrophularia nodosa . . .	19,49%	Conium maculatum	18,44%
Orchis Morio	24,71%	Ranunculus Ficaria . . .	15,27%
Cactus	36,07%		
Brassica oleracea	14,42%		

Nach BLACKLEDGE (1) ist der NaCl-Gehalt der Blätter von Acer, Ulmus, Ilex in der Nähe der Meeresküste größer; das Salz soll aus der Atmosphäre durch die Blätter direkt aufgenommen werden.

Die Schwankungen des Natrongehaltes sind durchwegs sehr beträchtliche, so daß obige Zahlen nur als zufällige Maximalwerte für die betreffenden Pflanzen angesehen werden können. So schwankt nach WOLFFS Daten der Natrongehalt der Blätter von Solanum tuberosum von Spuren bis 7,4%, bei Futterrunkel von 10,4—34,6%, Zuckerrübe 2,7—30,8%, Turnips 4—20,3%, Daucus 8,8—28,7%, Cichorium 4,1—28,1% und von Nicotiana nach KOSUTANY von 0,03—10,7% der Reinasche.

Es wurde schon erwähnt, daß der Natrongehalt während des Lebensganges der Blätter die Veränderungen, welche der Kaligehalt aufweist, nur andeutet und dieselben nicht präzise mitmacht. Möglicherweise dient das Natron einer Reihe von Funktionen, ganz analog wie das Kali, ohne es in jeder Hinsicht ersetzen zu können. Doch ist über eine derartige partielle Substitution noch nichts Beweisendes bekannt geworden. Daß natronreiche Blätter prozentisch weniger Kali enthalten müssen als natronarme Organe, ist selbstverständlich, und nur absolute Werte für Kali und Natron könnten hier etwas über das obwaltende Verhältnis aussagen.

Kalk ist in den meisten Fällen derjenige Mineralstoff, welcher den hervorragendsten Anteil an der Zusammensetzung der Asche von vollentwickelten Laubblättern nimmt, und während des Wachstums der Blätter am ausgiebigsten eine Vermehrung erfährt. Ältere und neuere Beobachtungen lehren, daß manche Pflanzen gegen eine Herabsetzung der Kalkzufuhr sehr empfindlich reagieren, wie schon BOEHM (2) für Phaseolus fand, und es wird an anderer Stelle zu zeigen sein, daß die Schädigung unter gewissen Bedingungen besonders leicht erfolgt (Gegenwart größerer Mengen von Magnesiumsalzen). Die Angaben SCHIMPERS (3), daß junge Triebe von Tradescantia Selloi in kalkfreien Lösungen kalkfreie Blätter von normaler Beschaffenheit hervorzubringen vermögen, sind nach den Nachprüfungen von LOEW (4) und BENECKE (5) wahrscheinlich nicht aufrecht zu erhalten. Kein Zweifel kann darüber bestehen, daß die Funktionen, welche von Kalkverbindungen im Stoffwechsel der Laubblätter ausgeübt werden, sehr mannigfaltiger Natur sind. Schon das stete Anwachsen des Kalkgehaltes der Blätterasche mit zunehmendem Alter des Organs, ferner das vikariierende

---

1) L. M. BLACKLEDGE, Ann. of Botan., *27*, 168 (1913). — 2) J. BOEHM, Ber. chem. Ges., *8*, 682 (1875). — 3) F. W. SCHIMPER, Flora (1890), p. 245. — 4) O. LOEW, Flora (1892), p. 373. — 5) W. BENECKE, Botan. Ztg. (1903), I, 104.

Verhältnis zur Kieselsäure, welches in vielen Fällen gefunden wird, deutet darauf hin, daß den Kalkverbindungen eine wichtige Bedeutung beim Aufbau des Zellhautgerüstes der Blätter zufällt und der Kalk die Rolle einer „Stützsubstanz" ebenso übernimmt, wie er im Tierreiche als schalen- und knochenbildende Substanz aufzutreten pflegt. Wie in Bd. I, p. 670 ausgeführt wurde, dürfen wir, auf manche Befunde gestützt, annehmen, daß in der Mittellamelle der verschiedensten Gewebe Kalkverbindungen (pektinsaurer Kalk) reichlich zugegen sind. Auf andauernde Bindung von Kalk durch Substanzen der Zellmembranen ist es vielleicht auch zurückzuführen, wenn in den mehrjährigen Coniferennadeln die Kalkmenge durch mehrere Vegetationsperioden hindurch vermehrt wird. Wir finden den Kalkreichtum der Blätter immer dann geringer, wenn die Ausbildung des Zellhautgerüstes eine Hemmung erleidet, was speziell bei Unterbleiben der Kohlensäureassimilation eine gewöhnliche Folge darstellt. So fand Church in albinotischen Blättern von Quercus rubra nur 8,25 % der Reinasche an Kalk, während die Asche der grünen Blätter dieser Eichenart 24,5 % Kalkgehalt aufwies. Auch etiolierte Blätter enthalten viel weniger Kalk als normale Lichtblätter. Weber fand bei Pisum den Kalkgehalt der Asche grüner Blätter mit 25,13 %, während etiolierte Erbsenblätter nur 12,18 % Kalk in der Reinasche enthielten. Natürlich muß schon daraus, daß eine normale Ausbildung des Zellhautgerüstes ohne ausreichende Versorgung mit Kalk in passender Form nicht stattfinden kann, auch umgekehrt die assimilatorische Funktion des Blattes durch diesen schweren Defekt und die intensive Wachstumsstörung sehr leiden. Daß noch andere Einflüsse von Kalkmangel auf die Assimilationstätigkeit entfaltet werden können, ist nicht unwahrscheinlich, doch zeigen die Erfahrungen von Molisch und von Benecke über Gedeihen mancher chlorophyllführender Algen in kalkfreien Nährlösungen, daß kaum eine allgemein geltende und direkte Beziehung zwischen Kalkverbindungen und Chlorophylltätigkeit bestehen dürfte. Auf Grund der Erfahrung, daß die durch Oxalate und Magnesiumsalze entstehenden Schrumpfungen des Cytoplasmas und Verquellungen der Chloroplasten durch Zusatz eines Kalksalzes bei grünen Pflanzen verhindert werden können, hat O. Loew (**1**) die Theorie aufgestellt, daß die Zellkerne und Chloroplasten grüner Pflanzen aus Kalkproteinverbindungen bestehen, welche durch Wechselwirkung mit Oxalaten oder Mg-Salzen zerstört werden, sobald kein hinreichendes Zuströmen von Kalkverbindungen in die Zelle statthat. Direkte Beweise für derartige Auffassungen ließen sich jedoch bisher nicht beibringen. Die durch (besonders lösliche) Ca-Salze zu erzeugende Chlorose mancher Pflanzen, z. B. bei Lupinus, ist wahrscheinlich eine indirekte Wirkung (Minderabsorption von Fe) und beruht auch auf Verminderung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration im Substrat (**2**).

Daß Kalkverbindungen in den Laubblättern ausgiebig zur Bindung von Stoffwechselprodukten, die in größerer Ansammlung schädlich wirken würden, wie es bei Säuren, vor allem Oxalsäure, der Fall ist, herangezogen werden und hiermit wichtige Stoffwechselfunktionen ausüben, ist kaum zu bezweifeln, und die anatomische Erfahrung lehrt, daß sehr große Mengen von Kalk, als Oxalat gebunden, in den Laubblättern vorkommen können. Doch braucht man nicht, wie es Schimper vielleicht zu einseitig tat, in der Oxalsäurebindung die Hauptfunktion des aufgenommenen Kalkes zu erblicken. Dies folgt schon daraus, daß nicht alle Blätter Oxalsäure bis zur

1) O. Loew, Landw. Jahrb. (1902) (1903), Flora (1903), p. 489; (1892), p. 382. Hierzu: P. Bruch, Landw. Jahrb. (1901); Benecke, Botan. Ztg. (1898), I, 92; (1904), II, 113. — **2**) Hierzu Mazé, Ann. Inst. Pasteur, *28*, 21 (1914).

Grenze toxischer Wirkungen formieren und auch bei genügender Kalkzufuhr Kalkoxalat nicht in allen Pflanzenblättern abgelagert wird (1). Über die biologische Bedeutung der Kalkablagerung ist vor allem auf die Darstellung STAHLS hinzuweisen (2).

Die Ansicht, daß den Kalkverbindungen eine wichtige Rolle bei der Translokation der Kohlenhydrate in den Laubblättern zuzuschreiben wäre [NOBBE, RAUMER und KELLERMANN, LIEBENBERG, PRIANISCHNIKOW (3)], halte ich nicht für wahrscheinlich und keinesfalls ist dieselbe soweit fundiert, als daß sie einer kritischen Diskussion zugänglich wäre.

Akzessorische Bedeutung kommt Kalkverbindungen gewiß in vielen einzelnen Fällen zu, die einer speziellen Diskussion hier nicht unterworfen werden können. Hingewiesen sei darauf, daß z. B. zur normalen Ausbildung von Cystolithen in zahlreichen Fällen die ausreichende Kalkzufuhr eine notwendige Vorbedingung darstellt (4), so auch bei vielen Haaren usw.

In ausgewachsenen Blättern findet man nicht selten 50—60 %, ja noch mehr an Kalk in der Reinasche. So enthalten nach den Zusammenstellungen von WOLFF die Blätter von:

Olea europaea	52,82%	CaO	Abies pectinata	66,54%	CaO
Prosopis Algarobilla	60,47%	„	Citrus Aurantium	56,38%	„
Humulus Lupulus	49,67%	„	Ephedra vulgaris	56,83%	„
Nicotiana Tabacum	54,33%	„	Vitis vinifera	34—60,9%	„
Pirus Malus	53,39%	„	Cynara Scolymus	53,07%	„
Sedum album	65,21%	„	Glaucium luteum	52,07%	„
„ reflexum	53,99%	„	Carpinus Betulus	61,14%	„

Sonst ist 20—40 % Kalkgehalt in der Blätterasche die Regel. Pflanzen, welche Kalkboden lieben, zeichnen sich nicht in allen Fällen durch höheren Kalkgehalt ihrer Blätter aus. Beispiele:

Erica carnea	32,07%	CaO	Triticum repens	7,28%	CaO
Leontopodium alpinum	29,80%	„	Galeopsis Ladanum	24,93%	„
Onobrychis sativa	31,01%	„	Sedum album	65,21%	„
Sesleria coerulea	17,13%	„	Festuca glauca	23,24%	„
			Medicago sativa	41,34%	„

Über minimale Werte des Kalkgehaltes bei Laubblättern geben nachfolgende Zahlen Aufschluß:

Thea chinensis	8,77%	CaO	Bambusa arundinacea	4,48%	CaO
Carex stricta	3,61%	„	Saccharum officinarum	3,13%	„
„ vesicaria	4,90%	„	Tripsacum dactyloides	1,64%	„
„ vulpina	7,20%	„	Briza media	2,00%	„

---

1) KOHL, Kalksalze u. Kieselsäure (1889). GROOM, Ann. of Boton. (1896), p. 95; Festlegung der Ca- u. Si-Körper in Pflanzenzellen: M. MÖBIUS, Ber. botan. Ges., *26*, 29 (1908); Wiesner-Festschrift, Wien 1908, p. 81. Auch B. GRAM, Mem. Ac. Roy. Danemark (7), *8*, 2, 71 (1909). — 2) E. STAHL, Flora, *113*, 1 (1919). — 3) NOBBE, Landw. Vers.stat., *13*, 323 (1870). RAUMER u. KELLERMANN, Ebenda, *25*, 25 (1880). LIEBENBERG, Wien. Akad., *84*, 447 (1881). PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *45*, 274 (1894). GROOM, Ann. of Botan, *10*, 91 (1896). — 4) Kalkfreie Cystolithen: H. MOLISCH, Österr. botan. Ztsch. (1882), p. 345. Über Metalloxydsalzreduktion ($AgNO_3$) an Cystolithen: MOLISCH, Ber. botan. Ges., *36*, 477 (1918). Organische Kalkkugeln im Blattstiel und Mesophyll von Capparis: MOLISCH, Ebenda, *34*, 154 (1916). Die kalkreichen harten krystallinischen Körperchen im Tabak bilden sich erst bei der Zubereitung der Blätter: vgl. RIDGEWAY, Journ. Agr. Res., *7*, 269 (1916).

Luzula maxima . . .	5,95% CaO	Sporobolus indicus. .	2,64% CaO
Scirpus lacustris . .	7,64% „	Stellaria media . . .	4,80% „
Hordeum murinum .	3,20% „	Ajuga reptans . . .	2,10% „
Lolium temulentum .	4,70% „	Colchicum autumnale	5,61% „
Milium effusum . . .	4,40% „	Larix decidua . . .	4,26% „

Bei den angeführten Cyperaceen und Gramineen ist die Asche reich an Kieselsäure. Über Schwankungen des Kalkgehaltes geben folgende Werte nach den Zusammenstellungen von WOLFF Aufschluß:

Kartoffel. . . .	16,1—46,7% CaO	Futterrunkel . .	6,6—13,9% CaO
Turnips	25,6—40,7% „	Zuckerrübe . .	5,7—32,3% „
Möhre	21,3—41,8% „	Cichorie	13,5—26,1% „
Tabak	27,1—60,3% „		

wobei auch abnorme Minima mitberücksichtigt sind.

Während des Heranwachsens der Blätter nimmt der Kalkgehalt derselben kontinuierlich so stark zu, daß alte Blätter die zehn- und mehrfache Menge von der im Jugendzustande der Blätter vorhanden gewesenen Kalkquantität aufweisen können (1). In dem von TUCKER und TOLLENS untersuchten Falle enthielten 500 Platanusblätter am 13. Juni 2,49 g CaO, am 5. November aber 9,16 g, woraus ersehen werden kann, daß nicht nur im Kulminationspunkte des Wachstums die Kalkvermehrung ansehnlich ausfällt. Die Vermehrung der Asche geschieht in den späteren Lebensstadien zum größten Teil durch Aufnahme von Kalk, so daß der prozentische Gehalt der Reinasche an Kalk sehr rasch zunimmt. GRANDEAU und FLICHE fanden bei Robinia vom 2. Mai bis 7. September eine kontinuierliche Steigerung des Kalkgehaltes der Blätterasche von 20,82% auf 72,97% und zuletzt waren sogar 3,77% der Frischsubstanz der Blätter CaO; auch bei Betula wuchs der Kalkgehalt der Laubasche vom 30. April bis Oktober von 28,72% auf 50,76% und bei Castanea in derselben Zeit von 18,41% auf 49,5%, während bei Prunus avium nur eine Zunahme von 30,57 auf 44,05% erfolgte. Die Herzblätter der Zuckerrübe enthielten in Analysen von BRETSCHNEIDER und KÜLLENBERG nur 4,76% CaO in der Asche, während die äußersten Blätter 24,2% CaO-Gehalt aufwiesen (2).

In mehrjährigen Blättern (die Untersuchungen beziehen sich meist auf Coniferennadeln) steigt die Kalkmenge durch mehrere Vegetationsperioden hindurch an. Für Pinus austriaca bestimmten GRANDEAU und FLICHE den Kalkgehalt in 1000 g Frischgewicht bei ganz jungen Nadeln im Juni mit 0,74, während im Oktober desselben Jahres 3,63‰ CaO gefunden wurde, im Mai des zweiten Lebensjahres 4,35‰, im Oktober 5,39‰, im Mai des dritten Lebensjahres 6,71‰, im Oktober 6,79‰, im Mai des vierten Lebensjahres 10,14‰, im Oktober 12,83‰ und im Mai des fünften Lebensjahres 18,92‰. In Prozenten der Reinasche stieg der Kalkgehalt von 15,53—69,32%. Der Alkoholextrakt von Blättern enthält nach SEISSL (3) viel mehr Mg als Ca.

Barytgehalt von Blättern gehört wohl zu den selteneren natürlichen Vorkommnissen. Der auf barythaltigem Nilschlamme erwachsene ägyptische Weizen wurde durch DWORZAK (4) untersucht. Hier waren die Blätter

1) Vgl. z. B. J. SEISSL, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *10*, 88 (1907). — 2) Für Beta auch K. ANDRLIK u. J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *34*, 75 (1910). — 3) J. SEISSL, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *17*, 623 (1914). — 4) H. DWORZAK, Landw. Vers.stat., *17*, 398 (1874).

reicher an Baryt als die Stengel, und 5,506 g Blätterasche enthielt 0,0049 g BaO, während 5,806 g Stengelasche nur 0,0015 BaO aufwies. SPALLINO (1) wies Baryt in Tabakblättern nach.

Die bisher aufgedeckten Verhältnisse des Magnesiagehaltes der Laubblätter bieten manche beachtenswerte Momente dar, doch müssen erst künftige experimentelle Forschungen bestimmte Anhaltspunkte zur Beurteilung der Funktionen, welche Magnesiaverbindungen im Stoffwechsel der Blätter übernehmen müssen und übernehmen können, liefern. Wichtig ist es jedenfalls, daß wir den Magnesiaverbindungen einen unentbehrlichen Anteil an der Konstitution des Zellplasmas und der Reserveproteide zuerkennen müssen, so wie die sichere Erfahrung, daß der Chlorophyllfarbstoff eine magnesiumhaltige Verbindung darstellt, und so die wichtigsten Funktionen des Blattes augenscheinlich mit dem Magnesium zusammenhängen. Auch an Phytinsäure gebunden ist Mg allgemein verbreitet. Damit müssen aber nicht alle Funktionen des Magnesiums erschöpft sein, und es erscheint jedenfalls bemerkenswert, daß eine Reihe von Beobachtungen ein stetes Ansteigen des Magnesiumgehaltes nicht nur absolut, sondern auch in Reinaschenprozenten gerechnet feststellen, so daß die Frage aufzuwerfen ist, ob nicht Magnesium analog wie in den tierischen Knochen, auch in pflanzlichen Zellhäuten, wenigstens in manchen Fällen als „gerüstbildende" Substanz auftreten kann, so wie Kalk. Doch ist dieser Frage bisher noch nicht experimentell näher getreten worden. Daß aber Magnesiumsalze unter bestimmten Bedingungen bei chlorophyllhaltigen Organen auch schädliche Wirkungen ausüben können, ist eine sehr interessante, schon von WOLFF, NOBBE, BOEHM (2) beobachtete Tatsache, welche von RAUMER, O. LOEW, sowie ATTERBERG und ULBRICHT (3) in ihrem Zusammenhang mit Kalkmangel erkannt worden ist. LOEW hat mit Recht betont, daß das gegenseitige Mengenverhältnis von Kalk und Magnesia: „Kalkfaktor" eine wichtige Größe für das Gedeihen der Pflanzen darstellt. Selbstverständlich ist es jedoch nicht erlaubt, alle schädlichen Wirkungen des Kalkmangels auf Giftwirkungen gleichzeitig anwesender Magnesiumsalze zu beziehen, und übrigens ist, wie BENECKE gezeigt hat, die durch Kalkzufuhr reparable Schädigung nicht für Mg spezifisch, sondern läßt sich auch durch andere Salze und Salzgemische (KNO_3 + Kaliumphosphat) erzeugen. LOEW meinte, daß Baryt und Strontium ähnlich wirken wie Magnesia.

Der Magnesiagehalt der Blätterasche geht nicht selten über den Gehalt an Magnesia in Samennährgeweben und anderen Reservestoffbehältern bedeutend hinaus. Hohe Mg-Werte sind unter anderem folgende (nach WOLFF):

Prunus avium	12,33%	MgO	Beta vulgaris (Zuckerrübe)	25,93%	MgO
Acer campestre	10,49%	„	Erica carnea	15,54%	„
Stellaria media	21,80%	„	Betula alba	15,35%	„
Solanum tuberosum	28,47%	„	Scrophularia nodosa	15,65%	„
Ilex Aquifolium	20,58%	„	Herniaria glabra	18,90%	„
Spiraea Ulmaria	18,02%	„			

1) R. SPALLINO, Gazz. chim. ital., *43*, II, 475 (1913). Auch ARTIS u. MAXWELL, Chem. News, *114*, 62 (1916). — 2) WOLF, Landw. Vers.stat., *6*, 218; NOBBE, Die organ. Leistg. des Kaliums, p. 80. BOEHM, Sitz.ber. Wien. Ak., *71* (1875). — 3) RAUMER, Landw. Vers.stat., *25*, 25 (1880). O. LOEW, Flora (1892), p. 380; (1903), p. 489. ATTERBERG u. ULBRICHT, Landw. Vers.stat. (1892); (1902), p. 104). SEISSL, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *6*, 537 (1903).

Als Minimalwerte seien angeführt:

Acacia Cebil	1,85% MgO	Trifolium pratense . .	0,70% MgO
Gossypium herbaceum	0,94% „	Medicago sativa . . .	1,00% „
Larix decidua	0,78% „	Brassica Rapa	1,00% „
Hordeum murinum . .	1,00% „	Thea chinensis	0,80% „
Triticum repens . . .	0,05% „	Cichorium Intybus . .	1,11% „

Dies sind aber nur zufällige und nicht konstant auftretende Befunde bei der betreffenden Pflanzenart. Für die Größe der vorkommenden Schwankungen mögen folgende Daten Beispiele sein (nach WOLFF):

Kartoffel	7,0—28,5% MgO	Zuckerrübe . . .	6,8—20,5% MgO
Turnips	1,0— 9,3% „	Futterrunkel . .	6,7—14,5% „
Möhre	1,2— 6,7% „	Cichorie	1,1— 6,5% „
Tabak	6,1—24,8% „		

Am häufigsten enthält die Blätterasche 3—8% MgO. Kalkpflanzen unterscheiden sich im MgO-Gehalte nicht von Urgebirgspflanzen. Aus den angeführten Daten könnte man vermuten, daß in manchen Fällen tatsächlich weitaus der größte Teil der vorhandenen geringen Mg-Menge als Eiweißverbindung, Phytin und im Chlorophyllfarbstoff gebunden vorkommt. Bemerkt sei, daß die kalkarmen und kieselsäurereichen Gramineenblätter auch wenig Magnesia führen; doch kann der MgO-Gehalt der Asche in anderen Fällen selbst deren Kalkgehalt übertreffen. Daß sich der MgO-Gehalt etiolierter Blätter in auffallender und konstanter Weise vom MgO-Gehalt grüner Blätter unterscheidet, haben die Aschenanalysen bisher nicht ergeben.

Das Ansteigen des MgO-Gehaltes in absoluter Gewichtsmenge während der Entwicklung und des Alterns der Blätter haben TUCKER und TOLLENS für 500 Platanusblätter verfolgt. Am 13. Juni wurden 0,24 g MgO gefunden, das Maximum von 0,85 g Ende August, worauf bis zum Laubfall eine geringe Abnahme bis 0,69 g sich einstellte. GRANDEAU und FLICHE geben Zahlen, auf 1000 g Frischgewicht berechnet, wonach bei Robinia, Prunus avium, Betula und Castanea der Mg-Gehalt ziemlich erheblich anstieg, am stärksten bei Prunus und Betula: bei ersterem von 1,83‰ auf 5,77‰, bei letzterer von 0,55‰ auf 3,82‰ von Ende April bis Oktober. Bei Fagus fand DULK die Zunahme weniger groß. Bei Aesculus und Syringa konnte ANDRÉ (1) ein mit der Assimilationstätigkeit ziemlich übereinstimmendes Ansteigen und Abfallen des organisch gebundenen Mg in den Blättern beobachten. Bei der Zuckerrübe fanden BRETSCHNEIDER und KÜLLENBERG in 1000 g Frischgewicht der Herzblätter 0,61 g, der äußersten Blätter aber 3,49 g MgO. Andere Analysen, wie jene der Cichoriumblätter von SCHULZ und der Leinblätter von BRETSCHNEIDER und KÜLLENBERG zeigen nur geringe Bewegungen der Mg-Quantität während der Blattentwicklung. In Prozenten der Asche berechnet, stellte sich in den Analysen von GRANDEAU und FLICHE nur für Prunus und Betula eine starke Mg-Vermehrung heraus, bei der Birke von 4,4% auf 16,41%; in den anderen Fällen war der prozentische Mg-Gehalt der Asche zurückgegangen. Für Zuckerrübe fand BRETSCHNEIDER in der Asche der innersten Blätter 6,71% MgO, in der Asche der äußersten Blätter 24,48% MgO. Nur der Kalkgehalt zeigte in diesen Fällen einen ähnlichen Gang der Veränderung.

1) ANDRÉ, Compt. rend., *162*, 566 (1916).

Auch für mehrjährige Blätter ergab sich ein kontinuierliches Ansteigen des absoluten Mg-Gehaltes bis zum Abfall der Blätter. So fanden GRANDEAU und FLICHE, daß die Nadeln von Pinus austriaca in ganz jungem Zustande auf 1000 g Frischgewicht 0,88 g MgO enthielten, als vierjährige Organe aber 2,5 g. Auf Reinascheprozente umgerechnet, nimmt der Magnesiagehalt aber in den Nadeln während des Älterwerdens ab. Interessant ist, daß jährlich zur Zeit der lebhaftesten Assimilationstätigkeit der Gehalt der Blätterasche an Mg emporschnellte.

	3. Mai	26. Juni	4. Sept.	22. Okt.
1. Lebensjahr	—	18,42%	25,89%	6,48%
2. ,,	6,27%	9,43%	8,28%	5,81%
3. ,,	9,71%	11,87%	9,70%	10,86%
4. ,,	9,35%	16,79%	14,62%	11,18%
5. ,,	8,91%	—	—	—

Tonerdegehalt der Asche von Laubblättern wird häufig als zufälliges, nicht konstantes Vorkommnis verzeichnet. So fand BERGSTRAND (1) bei Rubus arcticus auf alaunreichem Boden der schwedischen Provinz Vesterbotten 3,47—5,59% der Asche an Al_2O_3. Bereits FÜRST SALM HORSTMAR (2) erkannte bei seinen Versuchen mit Avena die Tonerde als entbehrlichen Aschebestandteil der Blätter. Ein sehr bemerkenswertes Vorkommnis stellen die Tonerdekörper dar, welche RADLKOFER (3) bei einer Anzahl von Symplocos-Arten im Palisadenparenchym der Blätter (aber auch in den Zweigrindenparenchymzellen) auffand. Wahrscheinlich ist auch in die Epidermismembran Tonerde eingelagert. Mehr als 50% der Asche von Symplocosblättern besteht aus Tonerde. Nähere biochemische Untersuchungen hierüber wären noch anzustellen.

Wie die altbekannte Erscheinung der Chlorose grüner Pflanzen und deren Heilung durch Eisendarreichung lehrt (vgl. Bd. I, p. 555), ist der geringe Eisengehalt, welchen man in Laubblättern stets feststellen kann, ein notwendiges Lebensbedürfnis. Man kann sich z. B. bei Mais relativ leicht überzeugen, daß in Wasserkulturen das im Samen gebotene Eisen nicht lange ausreicht, und die Pflanzen schon in mäßigem Entwicklungsgrade ihre Blätter verbleichen lassen. Zusatz von etwas Eisenvitriol äußert bereits nach 1—2 Tagen seine Wirkung im Erscheinen grüner Streifen längs der Blattnerven und bald sind die Blätter voll dunkelgrün. Wenn man sieht, welch ansehnliches Trockengewicht ein Schimmelpilz bei Gegenwart der geringen Eisenspuren, welche in den dargereichten Nährmaterialien und den ausgesäeten Conidien geboten waren, erzeugt, könnte man auf die Vermutung kommen, daß das Eisenbedürfnis der Laubblätter ein relativ größeres ist, als der Eisenbedarf bei Pilzen; doch liegen vergleichende Untersuchungen nicht vor, die hierin eine Entscheidung zuließen. Die an anderer Stelle dargelegten Erfahrungen über den Chlorophyllfarbstoff haben ergeben, daß das Pigment der Chloroplasten selbst eisenfrei ist, im Gegensatze zum roten Blutfarbstoff der Wirbeltiere und man ist gänzlich im Unklaren, wo die Störung eingreift, welche die Chloroplasten bei Eisenmangel befällt; vielleicht leiden die Stromata, worauf die Angabe von MOORE (4) hindeutet, daß man im farblosen Anteil der Chloroplasten Eisen nachweisen kann;

---

1) BERGSTRAND, Just (1875), p. 879. — 2) SALM-HORSTMAR, Ann. Chim. et Phys. (3), *35*, 54 (1852). — 3) L. RADLKOFER, Ber. botan, Ges., *22*, 216 (1904). — 4) B. MOORE, Proc. Roy. Soc., B, *87*, 556 (1914).

Nachuntersuchungen wären wünschenswert. Natürlich besteht aber auch die Möglichkeit, daß keine direkte Schädigung der Chloroplasten vorliegt, sondern die Chlorophyllkörner vom Cytoplasma aus durch Störung der Wechselbeziehungen irgendwie indirekt affiziert werden. Schädigungen der Zellkerne durch Eisenmangel könnte man erwarten, sind aber bisher noch nicht beobachtet worden. Die von CURTEL (1) näher studierte Tatsache, daß chlorotische Pflanzen verminderte Atmungstätigkeit und verminderte Transpiration zeigen, vermag ebenfalls für sich noch nicht das Rätsel der Chlorose näher aufzuhellen. Daß bei Kulturpflanzen, die an sauren Boden gewöhnt sind, Chlorose auftritt, sobald sie auf Kalkboden gezogen werden (Zea, Lupinus, Vicia) erklärt MAZÉ (2) damit, daß unter diesen Verhältnissen das Eisen in schwer aufschließbarer Form geboten wird, welche die Wurzeln nur ungenügend ausnutzen können.

Außer diesen wichtigen Beziehungen des Eisens zum Stoffwechsel der Laubblätter deutet die Tatsache, daß der Eisengehalt in älteren Blättern einen namhaft größeren Anteil an der Zusammensetzung der Asche zu nehmen pflegt [dies hob bereits BOUSSINGAULT (3) hervor] darauf hin, daß Eisenverbindungen noch an anderen Stoffwechselprozessen partizipieren. Es ist endlich sehr wahrscheinlich, daß ein gewisses Ausmaß der Eisenzufuhr auch bei Laubblättern eine Wachstumsförderung als chemische Reizwirkung entfaltet. Bei Düngungsversuchen mit Eisenvitriol im natürlichen Boden ist nicht zu vergessen, daß die Aufnahmeintensität durch Überführung des leicht löslichen Salzes in schwer lösliches Carbonat, Phosphat, durch die Entstehung basischer Salze, Hydroxyd in schwer zu bestimmender Weise modifiziert und reguliert wird, und die von der gebotenen Konzentration abhängige Reizwirkung nicht zutage treten muß. Trotzdem erhielt GRIFFITHS (4) positive Resultate, eine Wachstumsförderung nach Eisenvitrioldüngung. Die negativen Erfahrungen KELLNERS (5) dürften auf die genannten Nebenumstände zurückzuführen sein, und widersprechen nicht den von anderer Seite tatsächlich angegebenen Erfolgen.

Meist beträgt der Gehalt der Blätterasche an Eisen nur 1—4%, häufig weit unter 1%, häufig aber auch mehr als 4%. Nach WOLFF wurden unter anderen folgende höhere Eisenwerte konstatiert bei

	Proz.			Proz.	
Ulmus campestris . .	6,86	Fe_2O_3	Dianthus Caryophyllus	6,42	Fe_2O_3
Rhaphanus sativus . .	8,72	,,	Calluna vulgaris . bis	17,77	,,
Vitis vinifera . . bis	10,20	,,	Triticum repens . . .	16,17	,,
Larix decidua	4,61	,,	Ulex nanus	7,24	,,
Linaria vulgaris . . .	7,24	,,	Xanthium spinosum .	18,92	,,

Nach den Analysen von HAENSEL (6) ist Spinat nicht das Fe-reichste Blattgemüse, wie vielfach angenommen wurde, sondern Kopfsalat: 4,51% Fe_2O_3 der Asche, Kohlrabiblätter 3,6277%, Winterkohl 3,333%, Spinat 2,1937%. SERGER (7) hatte für Spinat im Mittel auf 100 g Trockengewicht 0,104 g Fe_2O_3 angegeben. In verdünnten Alkohol ging 4,3% Extrakt mit 26,23% Asche und 0,179% Fe_2O_3, im Rückstand blieb 8,7% Extrakt mit

---

1) G. CURTEL, Compt. rend., *130* 1074 (1900). — 2) P. MAZÉ, RUOT u. LEMOIGNE, Ebenda, *155*, 435 (1912). — 3) BOUSSINGAULT, Agronomie, *5*, 128. — 4) GRIFFITHS, Journ. Chem. Soc., *47*, 46 (1885); *48*, 114 (1886) — 5) O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *32*, 365 (1886). Auch F. BRACCI, Just (1888), p. 22. A. SUCCI, Ebenda. — 6) E. HAENSEL, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909). — 7) H. SERGER, Pharm. Ztg., *51*, 372 (1906).

9,18% Asche und 0,0656% Fe; in Benzin, Chloroform, Äther ging 1,6% Extrakt mit 19,78% Asche und 0,189% Eisen.

Die Schwankungen sind jedenfalls sehr groß; bei Kartoffel 1,8—4,3%, Futterrunkel 0,5—2,7%, Zuckerrübe: Spuren bis 2,4%, Turnips 0,7—3,3%, Möhre 0,6—4,9%, Cichorie 0,8—3,3% Fe_2O_3.

Die Bindungsformen, in welchen das Eisen in den Laubblättern vorliegt, sind völlig unbekannt. Ältere Versuche von BOUSSINGAULT (l. c.) stellten bereits fest, daß nur $1/4$—$1/3$ des Gesamteisens in den Alkoholextrakt von Blättern übergeht; doch weiß man nicht, um welche alkohollöslichen Eisenverbindungen es sich handelt. Noch weiterer Untersuchungen bedarf es auch, wie hoch sich der Eisengehalt etiolierter und albinotischer Blätter stellt im Vergleiche zu normalem grünem Laub. WEBER fand in etiolierten Pisumblättern mehr Eisen als in Lichtblättern dieser Pflanze.

Alte Blätter enthalten, wie BOUSSINGAULT und andere Untersucher fanden, in der Regel bedeutend mehr Eisen als junge Blätter derselben Pflanze. So enthielten alte Brassicablätter 9,64% Fe_2O_3 in der Asche, junge 2,0%; Lactuca sativa, alte Blätter 6,43% Fe_2O_3, junge 2,67%. Hingegen konnten TUCKER und TOLLENS bei Platanusblättern vom 13. Juni bis November keine Eisenzunahme (absolut gemessen) feststellen, und DULK fand den Eisengehalt von Faguslaub (auf 1000 g Frischgewicht bezogen) im November sogar geringer als im Mai; doch zeigt sich in der Berechnung auf Ascheprozente auch hier eine kleine Vermehrung. GRANDEAU und FLICHE konstatierten die Zunahme an Eisengehalt der Blattasche bei verschiedenen Holzgewächsen. Auch in den mehrjährigen Coniferennadeln fanden die letztgenannten Autoren eine fortdauernde Steigerung des Eisengehaltes (auf 1000 g Frischgewicht gerechnet) von der Jugend bis zum Lebensende: junge Nadeln enthielten 0,088‰, 5jährige 0,540‰ Fe_2O_3. Doch war der Zuwachs an Eisengehalt nicht so bedeutend, als daß auch die Aschenprozentzahl hätte eine deutliche Eisenzunahme erkennen lassen.

Mangangehalt ist bei Laubblättern ein sehr gewöhnlicher Befund, doch wie schon SALM-HORSTMAR erkannte, stellt Mangan einen weder regelmäßig gefundenen, noch notwendigen Aschenstoff dar. COUNCLER (1) fand in Blättern von Acer Pseudoplatanus 0,54%, Syringa vulgaris 0,7%, Fagus silvatica 9,55%, Gentiana ciliata 1,37%, Adonis aestivalis 0,45% Mn_3O_4 in der Asche. Viel Mangan fand JONES (2) in den Buccoblättern von Barosma crenatum. RUGE (3) gab Mangan von Ranunculus fluitans an und ROMBURGH (4) von den Teeblättern. In der Blattasche von Digitalis purpurea ist stets Mangan enthalten [BURMANN (5)], nach den Bestimmungen von FREUND (6) 0,0834—0,03661% der Trockensubstanz und 0,8652—3,8387% der Asche. Nach JADIN und ASTRUC (7) sind alte Blätter (auf die Frischsubstanz bezogen) meist manganreicher als junge; in der Asche erreichte aber mit einigen Ausnahmen der Mangangehalt bei jungen Blättern das Maximum. Auf dem manganreichen Boden von Oahu (Hawaii) fand KELLEY (8) die Pflanzen chlorophyllärmer, in ihrer Asche mehr Mn und Ca und weniger PO_4 und Mg als normal; die Blätter enthielten bis zu 8,7% der Asche an Mangan. PASSERINI (9) gab für die Blätter von Lupinus albus sogar einen

1) COUNCLER, Botan. Zentr., *40*, 97, 129 (1889). — 2) H. W. JONES, Pharm. Journ. (3), *9*, 673 (1879). — 3) G. RUGE, Apoth.-Ztg. (1891), p. 208. — 4) VAN ROMBURGH u. LOHMANN, Just (1898), II, 47. — 5) J. BURMANN, Schweiz. Wochsch. Chem. Pharm., *49*, 562 (1911). Bull. Soc. Chim. (4), *9*, 957 (1911). — 6) H. FREUND, Pharm. Zentr.halle, *55*, 481 (1914). — 7) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *156*, 2023 (1913). — 8) W. P. KELLEY, Office of Ex. Sta. Bull. Hawaii (1912), *26*, 56. — 9) N. PASSERINI, Just (1904), II, 439.

Mn-Gehalt von 8,96% an, wogegen im Gewebe der Stengelbasis 3,3%, des oberen Stengelteiles 3,0%, von älteren Hülsen 5,1% Mangan enthalten waren. Bei Mais sah MAZÉ (1) eine merkwürdige „Chlorose" bei Fehlen von Mangan, ohne daß das Chlorophyll verschwindet; diese Erkrankung soll durch Blätterextrakt von Mais geheilt werden.

Kupfergehalt in Spuren ist auch bei Laubblättern von Pflanzen auf kupferhaltigem Boden sichergestellt.

Phosphorsäure ist in den Laubblättern in verschiedener Form an den wichtigen Tätigkeiten des Stoffwechsels unmittelbar beteiligt. Außer dem Anteil an dem Aufbau der Zellkerne, den die Phosphorsäure als „Nucleinphosphorsäure" wie allenthalben nimmt, bildet Glycerophosphorsäure ein. wesentliches Konstituens der Phosphatide, Inositphosphorsäure als Ca- und Mg-Salz das Phytin. Dazu kommen wohl noch andere organisch gepaarte PO_4-Körper. Nach BELZUNG (2) soll ein Teil der in den cactiformen Euphorbien nach Alkoholbehandlung in den Geweben reichlich ausfallenden Sphärite ein mit Äpfelsäure gepaartes Calciumphosphat darstellen. Nach den Erfahrungen von SCHIMPER und von IWANOFF (3) ist in den Mesophyllzellen anorganische PO_4 nur in sehr geringer Menge vorhanden. Hingegen läßt sich mit Mg-Mischung oder mit Molybdänsalpetersäure PO_4 in den Zellen der Parenchymscheiden der Hauptnerven nachweisen, stufenweise weniger in den Scheiden der sekundären und tertiären Nerven. Große Mengen Phosphate, welche bei der Alkoholbehandlung als Sphärokrystalle von phosphorsaurem Kalk ausfallen, finden sich wie LEITGEB und HANSEN zeigten, in den assimilierenden Stengeln cactiformer Xerophyten: Euphorbia, Stapelia, Cactaceen u. a.; RE (4) fand dieselben auch in Agave mexicana. Hier scheint nicht das Assimilationsgewebe der Sitz der Mineralphosphate zu sein. Hingegen scheiden sich nach TUNMANN (5) beim Einlegen der Stengel von Equisetum arvense Calciumphosphatkrystalle (die einen organischen Körper enthalten) im Assimilationsgewebe und in den Carinalhöhlen aus. Vielleicht bestehen endlich die von RODIER (6) in Senecio vulgaris beobachteten Sphärite aus Calciumphosphat. Eine Reihe von Beobachtungen betrifft aber auch Ausscheidungen von phosphorsaurem Kalk in lebenden Blattzellen. NOBBE, HAENLEIN und COUNCLER beobachteten dieselbe bei Wasserkulturexemplaren von Robinia und Soja, ZIMMERMANN (7) in den lebenden Epidermiszellen der Stengel und Blätter einer Cyperus-Art. Der Gehalt an Gesamtphosphorsäure ist in der Asche von Laubblättern in der Regel viel geringer als bei Reservestoffbehältern, und auch in ganz jugendlichen Blättern geht derselbe selten über 15% der Reinasche hinaus. Das Maximum des Gehaltes an Phosphorsäureionen liegt nach IWANOFF nicht bei allen Blättern in demselben Lebensstadium. Bei Salix babylonica wurde es in jungen, sich entfaltenden Blättern gefunden, in anderen Fällen erst im völlig ausgewachsenen Blatte. Einige maximale Werte für den Gehalt an Gesamtphosphorsäure in der Asche ausgewachsener Laubblätter sind nach WOLFF folgende:

---

1) MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *28*, 21 (1914). — 2) E. BELZUNG, Journ. de Botan. (1893), p. 221. VAUDIN, Compt. rend., *121*, 362 (1895). — 3) SCHIMPER, Flora (1890). L. IWANOFF, Jahrb. wiss. Botan., *36*, 361. — 4) L. RE, Annuar. Real. Ist. bot. Roma, *5*, 38 (1894). — 5) O. TUNMANN, Schweiz. Wochsch. Chem. Pharm. (1910), Nr. 43. — 6) E. RODIER, Compt. rend., *108*, 906 (1889). Über Phosphatsphärite auch SCHAARSCHMIDT, Just (1882), I, 412. — 7) A. ZIMMERMANN, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pfl.zelle, *3*, 311 (1893).

	Proz.			Proz.	
Gossypium herbaceum.	24,27	P_2O_5	Aescul. Hippocastan. 6. V.	24,40	P_2O_5
Fagus silvatica 16. V. .	32,43	„	Onobrychis sativa. . .	26,10	„
Thea chinensis	21,69	„	Fraxinus excelsior . .	22,62	„
Phaseolus vulgaris 4. VI.	25,90	„	Scrophularia aquatica .	29,81	„
Syringa vulgaris . . .	26,77	„	Betula alba	22,74	„
Aristolochia Clematitis .	25,10	„	Erica carnea	21,44	„

In der Regel dürfte das Maximum für Gesamtphosphorsäure in der Asche von Laubblättern aber zwischen 8 und 15% liegen. — In den von HAENSEL (1) untersuchten Blattgemüsen war das Minimum bei Spinat (8,19%), das Maximum bei Winterkohl (12,2%). Durch den reichlichen Gehalt der Asche an Kalk oder Kieselsäure sinkt jedoch in manchen Fällen auf der Höhe der Entwicklung der Blätter der relative Gehalt an Phosphorsäure bedeutend herab. So ergab sich für Beta vulgaris bis 2,08%, Cynara Scolymus bis 0,81%, Tricuspis seslerioides 1,58%, Vitis vinifera bis 0,66%, Calluna vulgaris bis 0,60%, Calamus Rotang 0,29% und Bambusa arundinacea bis 0,18% P_2O_5 in der Blattasche. Schwankungen des P_2O_5-Gehaltes der Asche ergaben sich für Tabakblätter von 1,97—10,6%, Kartoffel 2,6 bis 12,1%, Futterrunkel 2,1—11,0%, Zuckerrübe 1,0—15,5%, Turnips 2,4—14,3%, Möhre 1,0—8,1%, Cichorie 4,7—9,0%.

Durch Darreichung phosphorsäurereichen Düngers kann der P_2O_5-Gehalt der Asche des Laubes gesteigert werden, doch ist dies keine notwendige Folge der vermehrten Phosphorsäurezufuhr. So führte WOLFF (Bd. I, p. 85) Versuche mit Zuckerrübe an, welche folgende Zahlen für den P_2O_5-Gehalt der Asche der Blätter ergaben:

im rohen Torf kultiviert	7,64%
Düngung mit Ammon u. P_2O_5	15,49%
„ „ Kali u. P_2O_5	5,87%
„ „ Kali, Ammon u. P_2O_5	5,04%
„ „ Ammon, P_2O_5, Kali u. NaCl	4,13%
„ „ Kali, P_2O_5, NaCl	2,77%

Bei der Kartoffel beobachteten SEISSL und GROSS (2) Beeinflussung der Zusammensetzung der Blätterasche durch Darreichung von Phosphatdünger.

Bei Quercus rubra fand CHURCH die weißen Partien panachierter Blätter viel ärmer an Gesamtphosphatsäure in Aschenprozenten als die grünen Stellen. IWANOFF beobachtete, daß die weißen Stellen panachierter Blätter in den Mesophyllzellen bedeutend mehr Phosphorsäureionen enthalten, als die grünen. Der Ausfall muß demnach die organischen gepaarten Phosphorsäuren betreffen. Etiolierte Pisumpflanzen fand WEBER viel phosphorsäurereicher in ihrer Asche als normal grüne Blätter: 20,29% P_2O_5 gegen 12,71%. Dieses Verhältnis ist bisher nicht ohne weiteres verständlich, und es bedarf einer Aufklärung, ob dabei allein der verminderte relative Kalkgehalt beteiligt ist.

Die Gesamtphosphorsäure der Laubblätter erreicht eher oder später im Entwicklungsgange ein Maximum, welches verschieden lange Zeit, bisweilen bis gegen das Ende der Vegetationsperiode, bestehen bleibt;

---

1) E. HAENSEL, Biochem. Ztsch., *16*, 9 (1909), — 2) J. SEISSL u. E. GROSS, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *5*, 862 (1902).

dann folgt aber stets (wie beim Kali) eine merkliche Verminderung, welche wahrscheinlich auf ein Rückströmen in die Achsenorgane zu beziehen ist, besonders bei Holzgewächsen. In welcher Form die Phosphorsäure „auswandert", bleibt noch sicherzustellen. TUCKER und TOLLENS fanden in 500 Platanusblättern am 13. Juni 1,30 g P_2O_5, welche Menge bis Anfang Oktober unverändert blieb, und sich bis zum Laubfall auf 0,56 g erniedrigte. In den an verschiedenen Holzgewächsen ausgeführten Untersuchungen von GRANDEAU und FLICHE wurde das Maximum der Phosphorsäure, bezogen auf 1000 Teile Frischgewicht der Blätter, meist schon Ende April gefunden, worauf stetig Verminderung eintrat; sehr stark war der Abfall der Phosphorsäure ausgedrückt in Prozenten der Reinasche: Asche von Robiniablättern enthielt am 2. Mai 21,16%, am 3. Juli nur mehr 8,69%, am 7. September 5,31%, am 13. Oktober 1,9% Phosphorsäure: infolge der starken Vermehrung des Kalkgehaltes der Asche. Bei Fagusblättern fand DULK hingegen an Phosphorsäure, ausgedrückt in Promille der Frischsubstanz, eher etwas mehr in Herbstblättern als im Mai. Hier war die absolute Verminderung nicht ausgesprochen; prozentische Verminderung der Phosphorsäure in der Asche war aber auch hier vorhanden. ANDRÉ (1) fand bei Kastanienblättern die wasserlösliche PO_4 in dem Jugendstadium am reichlichsten, und um so mehr Lecithin PO_4, je näher die Blütezeit rückte. Für die alkohollösliche Phosphorsäure (95% Alkohol) fand SEISSL (2) in fortlaufenden Bestimmungen bei Baumblättern das Maximum später im Sommer eintretend, als für die Gesamt-PO_4, das Minimum in vergilbten Blättern. Der alkohollösliche Anteil des P betrug im Mittel 23,3% des Gesamt-P. Analysen von SEREX (3), kurz vor Eintritt der Herbstfärbung bei Castanea dentata, Acer saccharinum und Quercus alba vorgenommen, zeigten den Rückgang der PO_4 gegenüber Frühjahrsblättern verschieden ausgeprägt je nach der Baumart, der Region der Baumkrone und der Bodenbeschaffenheit. K und N gingen gleichmäßiger zurück.

Bei einjährigen Pflanzen wie Papaver und Pyrethrum liegt nach ANDRÉ (4) das Maximum der PO_4 zur Zeit des Auftretens der Blütenknospen; bei vollendeter Blütenbildung ist schon eine Verminderung des PO_4-Gehaltes der Asche eingetreten. Bei Cichorium Intybus sah SCHULZ und BRETSCHNEIDER-KÜLLENBERG bei Linum ein spät eintretendes Maximum des absoluten PO_4-Gehaltes; nach WUNDER enthielten zweiwöchentliche Turnipsblätter 1,35, 23wöchentliche Blätter aber 2,10 Teile P_2O_5 auf 1000 Teile Frischgewicht. In den Herzblättern der Zuckerrübe fanden BRETSCHNEIDER-KÜLLENBERG 1,15 Teile P_2O_5, in den äußersten Blättern jedoch nur 0,47 Teile auf 1000 Teile Frischgewicht. Die alten im Abfallen begriffenen Blätter enthalten nach IWANOFF nur wenig anorganische PO_4. In mehrjährigen Blättern scheint sich nach den Erfahrungen von SCHROEDER, DULK, GRANDEAU und FLICHE wenigstens in Coniferennadeln während der ganzen übrigen Lebensdauer, von kleineren Schwankungen abgesehen, der Phosphorsäuregehalt nicht wesentlich zu ändern; in Aschenprozenten aber zeigt sich starke P_2O_5-Abnahme.

Die seitens VON DER CRONE (5) ausgesprochene Meinung, daß in Wasserkulturen ein Überschuß an löslichem Phosphat Erscheinungen der

---

1) G. ANDRÉ, Compt. rend., *149*, 45 (1909). — 2) J. SEISSL, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *12*, 157 (1909); *14*, 886 (1911). — 3) SEREX jr., Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1286 (1917). — 4) G. ANDRÉ, Compt. rend., *142*, 226 (1906). — 5) G. VON DER CRONE, Sitz.ber. niederrhein. Ges. Bonn (1902). Diss. Bonn 1904. Naturwiss. Rdsch. (1905), p. 264.

Chlorose unabhängig von Eisendarreichung erzeugt, hat sich nicht bestätigt. Wenn in der von diesem Autor besonders empfohlenen Nährsalzmischung als P-Quelle nur Tricalciumphosphat und Ferrophosphat dargereicht werden, die beide sehr wenig löslich sind und sehr wenig Ionen liefern, so spielt Ionisierung der Phosphate praktisch keine Rolle, und die Pflanzen nehmen fast nur nicht dissoziiert Phosphat auf. Theoretisch ist allerdings Hydrolyse durch den gelösten Anteil des $Ca_3(PO_4)_2$ und Bildung von OH-Ionen aus Wasser zu erwarten, doch sind dies äußerst kleine Werte. Wenn nun VON DER CRONE statt Tricalciumphosphat sekundäres Ca-Phosphat anwendete und hierbei oft Entstehung von Chlorose fand, muß man daran denken, daß hier ein besser lösliches und stärker dissoziiertes Salz mit den Ionen Ca und HPO_4 gegeben war und die Gefahr nahe lag, daß durch Mehrverbrauch der HPO_4-Ionen freies Alkali und Bildung von unlöslichem Eisenhydroxyd eintrat, wodurch Eisenmangel und Chlorose erklärlich ist. Noch größer ist die Gefahr bei Verwendung bei Dialkaliphosphaten und selbst, wie VON DER CRONEs Versuche zeigten, bei Anwendung einer Mischung gleicher Teile KH_2PO_4 und K_2HPO_4. Hierzu sind auch die kritischen Bemerkungen von BENECKE (1) und TAKEUCHI (2) zu vergleichen.

Der Schwefel, welcher bei den Aschenanalysen der Blätter als Gesamtschwefel in Form von Schwefelsäure in Rechnung gestellt wird, ist nur zum geringen Teile als Schwefelsäure präformiert, es dürfte vielmehr der Hauptanteil des vorhandenen Schwefels als Eiweißschwefel zugegen sein. Doch ist es noch gänzlich unbekannt, wie sich der Gesamtschwefel auf die verschiedenen Bindungsformen: Eiweißschwefel, Senföle, Sulfide, gepaarte und einfache Schwefelsäure verteilt. In der Reinasche wurden meist 3—6% SO_3 gefunden. Doch steigt der Gehalt bedeutend höher, zumal wenn die Pflanzen, wie z. B. die Cruciferen, reich sind an schwefelhaltigen Senfölglucosiden. Einige höhere Werte für Schwefelgehalt der Blätterasche sind folgende:

	Proz.			Proz.	
Urtica dioica	10,58	SO_3	Reseda canescens . . .	18,04	SO_3
Bambusa arundinacea .	10,71	„	„ Luteola	12,73	„
Poa annua	10,53	„	Rubus arcticus (Alaunboden)	14,21	„
Cynodon Dactylon . . .	11,31	„	Acer campestre	9,67	„
Ranunculus lanuginos. .	14,0	„	Thea chinensis . . bis	10,38	„
Salix alba	15,16	„	Theobroma Cacao . . .	10,89	„
Brassica oleracea . . bis	19,51	„	Anethum graveolens . .	13,14	„
„ Rapa . . . bis	17,98	„	Nicotiana Tabac. . . bis	10,70	„
Sinapis arvensis	14,07	„	Galeobdolon luteum . .	15,50	„
Armoracia rusticana . .	17,12	„	Serratula tinctoria . . .	14,50	„
Capsella bursa pastoris .	9,78	„			

Die Minimalwerte, die sich in den einzelnen Fällen ergeben haben, reichen bis 0,5% SO_3 in der Reinasche herab. Die gefundenen Schwankungen im Schwefelgehalte sind meist ziemlich bedeutend.

TUCKER und TOLLENS fanden den absoluten Gehalt an Schwefel bei Platanenblättern bis zum Herbst ansteigend und sahen kaum eine Verminderung vor dem Laubfalle ausgesprochen. Damit stimmen die meisten Analysen von GRANDEAU und FLICHE überein, welche bei Robinia, Betula, Castanea während des Vegetationsganges der Blätter keine Veränderungen

1) W. BENECKE, Botan. Ztg. (1904), II, 123. — 2) T. TAKEUCHI, Bull. Coll. Agr. Tokyo, 7, 425 (1907).

im Schwefelgehalte sahen, nur bei Prunus avium nahm die Schwefelmenge vom Frühjahr bis zum Herbst stark zu. DULK sah auch bei Buchenblättern nur geringe Änderungen im Schwefelgehalt. Ähnliche Ergebnisse hatten die Untersuchungen verschiedener Autoren an krautigen Pflanzen. So unterscheiden sich nach MÜLLER-MITTENZWEI, BRETSCHNEIDER-KÜLLENBERG die ältesten Blätter von Beta kaum im absoluten S-Gehalte von den jüngsten. WUNDER fand bei Turnips den Schwefelgehalt von der 2.—14. Woche ansteigend, dann wieder fallend Für Senf sind die Analysen von BERTHELOT und ANDRÉ (1) zu vergleichen. In Prozenten der Asche gerechnet ist oft ein starkes Absinken des relativen Schwefelgehaltes gefunden.

In den mehrjährigen Coniferennadeln wurde keine Abnahme des absoluten und relativen Schwefelgehaltes während des ganzen Lebensganges konstatiert. Bei Pinus austriaca beobachteten vielmehr GRANDEAU und FLICHE ein Anwachsen des Schwefelgehaltes (auf 1000 Teile Frischgewicht berechnet) mit zunehmendem Alter. Worauf diese Erscheinung zu beziehen ist, ist ungewiß.

Der Gehalt der Blätterasche an Kieselsäure ist äußerst verschieden; in manchen Fällen erreicht derselbe den Betrag von 80%, in anderen Fällen sind nicht mehr als Spuren von Kieselsäure nachweisbar. Gänzlich fehlen dürfte die Kieselsäure wohl niemals, wie in anderen pflanzlichen und tierischen Organen. Zweifellos stellt die Kieselsäure der Blätter in erster Reihe eine beim Aufbau der Zellmembranen verwendete Substanz, eine „Stützsubstanz" dar. Vielleicht ist ursprünglich nicht Kieselsäure selbst, sondern eine noch nicht bekannte organische Siliciumverbindung vorhanden. In Heu fand TAKEUCHI (2) 0,065% alkohollösliche SiO_2, die nach ihm wahrscheinlich organischer Natur ist. Schon DAVY (3) hob hervor, daß speziell die Zellwände reich an Kieselsäure sind. Besonders sind es hier wiederum die Blattränder, aber auch Haare, Cystolithen usw., welche reichlich Kieselsäure führen; auch an die Stegmata in der Umgebung monocotyler Bastfasern ist zu erinnern (4). Kalk und Kieselsäure zeigen als Stützsubstanzen gegenseitige Vertretung, indem auffällig kleine Werte von Ca oder SiO_2 häufig mit großen Werten des anderen Stoffes gleichzeitig nebeneinander gefunden werden. Als Beispiele mögen dienen:

Viel Kalk, wenig SiO_2	Ca	SiO_2	Viel SiO_2, wenig Kalk	Ca	SiO_2
Castanea vesca	74,55 %	1,46 %	Castanea vesca	44,01 %	36,67 %
Fraxinus excelsior	39,45 %	2,63 %	Leptochloa mucronata	5,94 %	55,92 %
Vitis vinifera	45,69 %	1,61 %	Vitis vinifera	41,61 %	39,44 %
Thea chinensis	29,68 %	2,11 %	Andropogon scoparius	2,12 %	64,62 %
Leontopodium alpin.	29,80 %	1,23 %	Sorghum avenaceum	2,92 %	61,56 %
Erica carnea	32,07 %	12,38 %	Erica tetralix	16,27 %	48,35 %
Betula alba	39,12 %	2,26 %	Calluna vulgaris	12,02 %	48,08 %
Sedum album	65,21 %	5,81 %	Phragmites commun.	5,03 %	66,20 %
Pinus silvestris	41,37 %	13,11 %	Picea excelca	15,15 %	70,07 %
Abies pectinata	66,54 %	8,15 %	Larix decidua	4,26 %	84,34 %
Prosopis Algarobilla	60,47 %	5,94 %	Calamus Rotang	16,97 %	67,96 %
Juglans boliviana	47,17 %	8,50 %	Zea Mays	13,78 %	63,76 %
Helianthus annuus	12,56 %	0,88 %	Scleranthus annuus	8,00 %	23,90 %

Die Fälle von Castanea und Vitis zeigen wie stark sich die Relation Ca:Si mit den Vegetationsbedingungen ändern kann. Die aufgezählten

1) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *112*, 122 (1891). — 2) T. TAKEUCHI, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 429 (1907). — 3) H. DAVY, Ann. de Chim., *31*, 279 (1799). — 4) Hierzu: M. MÖBIUS, Ber. botan. Ges., *26*, 29 (1908). Wiesner-Festschrift, Wien 1908, p. 81.

Ericaceen beweisen, daß nahe verwandte Arten und Gattungen verschiedenen Ca- und Si-Reichtum der Blätter besitzen können. Noch prägnanter tritt dies hervor bei den Nadeln unserer heimischen Coniferen, unter denen Fichte und Lärche zu der kieselsäurereichen, die Edeltanne aber zu den kalkreichen Gewächsen zählt (**1**). Manche Familien: Crassulaceen, Leguminosen, Cruciferen pflegen vorwiegend Kalk zu führen, während die Blätter der Gramineen, Cyperaceen und Palmen bekanntlich reich an SiO_2 sind. ABSHAGEN (**2**) verfolgte an Arundinaria japonica den Fortgang der Kieselsäureeinlagerung und sah die Blätter zuerst verkieseln, dann die Seitentriebe und zuletzt die Halme. Die Hauptmenge von SiO_2 lag in den unteren und oberen Regionen der Halme; von innen nach außen zeigte sich eine Steigerung des SiO_2-Gehaltes in den Geweben des Halmquerschnittes. Bei den Galieen fand NETOLITZKY (**3**), der sich der Methylenblaufärbung der Kieselskelette bei der Untersuchung bediente, einzelne Zellen der Epidermis und die Haare verkieselt. Über die Kieselkörper und Zellwandverkieselungen der Blätter der Chrysobalaneen sind besonders die Angaben von KÜSTER (**4**) zu vergleichen. In allen Fällen sind in erster Reihe die Epidermiszellen bei der Verkieselung der Zellwände beteiligt. Hier sei nur ganz kurz auf die Kieselzellen der Gräser (**5**), bei denen MOLISCH (**6**) besonders große Kieselkörper in Arundo Donax fand, bei Capparis (**7**), bei Commelinaceen (**8**), auf die Kieselmembranen der Boragaceen (**9**) hingewiesen. STAHL (**10**) hat die Biologie der Kieselsäure eingehend behandelt. Die Schwankungen des Kieselsäuregehaltes sind unter natürlichen Wachstumsverhältnissen meist bedeutend, und durch künstliche Kulturbedingungen kann man selbst bei ausgeprägt SiO_2-reichen Gewächsen, wie Zea Mays, den Kieselsäuregehalt sehr stark herabdrücken [vgl. FROHNMEYER, l. c.].

Dem Charakter als Zellwandbaustoff entsprechend, nimmt die Kieselsäure während der Entwicklung und mit dem Altern der Blätter meist dauernd zu, und selbst bei Blättern, welche ansehnliche Mengen Kalk führen, wie Rotbuche und Kiefer, sehen wir die ursprüngliche SiO_2-Quantität zum Schlusse des Lebenslaufes auf das Mehrfache angewachsen. Natürlich ist damit nicht ausgeschlossen, daß es eine starke Kalkaufnahme mit sich bringt, daß sich der prozentische Gehalt der Asche an Kieselsäure im Laufe des Lebensganges relativ vermindert. Pteridium aquilinum zeigte KEEGAN (**11**) im Herbst ein Ansteigen der SiO_2 von 17,3 auf 53%. Die Festigung der Pflanze hängt nicht von dem Gehalte der Zellmembranen an Kieselsäure ab, wie früher oft angenommen wurde, da man auch das Lagern des Getreides einem zu geringen Kieselsäurevorrat zuschrieb. Mais läßt sich z. B. ohne Schädigungen bis zu einem geringen Bruchteil des normalen SiO_2-Gehaltes an Kieselsäure verarmen. Und wir wissen übrigens auch, daß reine Cellulosemembranen zu den festesten Pflanzenmaterialien zählen.

Eine Beziehung zwischen der herbstlichen Ausbildung von Anthokyan bei Bäumen und dem Kieselsäuregehalt meinte KEEGAN (**12**) annehmen zu können, indem er fand, daß die Blätter von Bäumen mit stark roter Herbstfärbung ärmer an Kieselsäure zu sein pflegen als Blätter, welche sich nur gelb färben. So wurde gefunden:

---

1) Vgl. COUNCLER, Just (1886), I, 161. — **2**) U. ABSHAGEN, Dissert. Kiel (1912). — **3**) FR. NETOLITZKY, Österr. bot. Ztsch., *61*, 409 (1911). — **4**) E. KÜSTER, Bot. Zentr., *69*, 46 (1897). Cyperaceen: S. KAPHAHN, Beihefte bot. Zentr., *18*, I, 237 (1905). — **5**) FROHNMEYER, Bibl. Bot., *86*, 41 (1914). — **6**) MOLISCH, Ber. bot. Ges., *36*, 474 (1918). — **7**) MOLISCH, Ebenda, *34*, 154 (1916). — **8**) MOLISCH, Ebenda, *36*, 277 (1918). — **9**) GUTTMANN, Ztsch. allg. österr. Apoth.Ver., *55*, 219 (1917). — **10**) E. STAHL, Flora, *113*, 1 (1919). — **11**) KEEGAN, Chem. News, *111*, 289 (1915). — **12**) P. KEEGAN, Nature (1903), p. 30·

Mit roten Herbstblättern		Mit gelben Herbstblättern	
Acer norvegicum . . .	8,7% SiO_2	Carpinus Betulus . . .	42,2% SiO_2
Quercus coccinea . . .	3,0% „	Acer Pseudoplatanus .	20,7% „
		Quercus pedunculata .	13,0% „

Die Meinung von GRIMALDI (1), daß die SiO_2 in den grünen Blättern nach Analogie der CO_2 reduziert werden könne, ist unbewiesen und unwahrscheinlich.

Der Chlorgehalt der Blätter schwankt innerhalb weiter Grenzen von maximalen Werten um 25% der Reinasche bis zu unbestimmbaren Spuren herab. Auch bei derselben Pflanzenart ist die Veränderlichkeit des Cl-Gehaltes in der Blattasche bedeutend. VANDEVELDE (2) fand keine Gesetzmäßigkeit in den Schwankungen. Auf die mit reichlichem Cl-Gehalt verbundenen Verhältnisse wird noch bei der Schilderung der Halophyten und ihrer biochemischen Eigentümlichkeiten näher einzugehen sein. Bemerkt sei nur, daß mit hohem Cl-Gehalt nicht notwendig ein hoher Gehalt der Blätterasche an Natron einhergehen muß. In der Asche albinotischer Eichenblätter fand CHURCH mehr Cl als in den grünen Vergleichsblättern. Hier und da ist auch Jod und Brom in den Blättern von Landphanerogamen nachgewiesen worden. In Seegras bestimmten ITALLIE und ZANDE (3) den Jodgehalt mit 0,0019%. Die Asche enthielt viel SiO_2, SO_3, Borsäure, Chloride, Jodide, Carbonat, Fe, Mn, Zn, Al, Ca, Ba, Mg, K und Na.

Den Arsengehalt von Laubblättern untersuchten JADIN und ASTRUC (4). Junge und alte Blätter enthalten Arsen, letztere sind daran reicher, besonders auf die Frischsubstanz bezogen. Meist ist aber die Asche junger Blätter arsenreicher als jene alter Laubblätter. Arsen in Tabakblättern fand SPALLINO (5) zu 1,02 mg pro 100 g Trockensubstanz; es dürfte aber aus den zur Vertilgung schädlicher Insekten benutzten Präparaten stammen. In Tabakblättern wies endlich TRAETTA MOSCA (6) auch Gehalt an Lithium, Caesium und Titan nach; er meint, daß Titan eine Bedeutung als Katalysator im Stoffwechsel entfalten könnte.

§ 3.

Resorption von Mineralstoffen durch Laubblätter.

Mit dem leicht zu führenden Nachweise, daß welk gewordene Blätter nach Eintauchen in Wasser wieder straff werden, indem sie Wasser aufnehmen, ist auch die Möglichkeit eröffnet, daß Aschenstoffe aus dem die Blattfläche berührenden Wasser resorbiert werden und in das Innere des Blattes gelangen. Dabei spielen die Spaltöffnungen, welche sich an den turgeszent gewordenen Blättern weit öffnen, als Eintrittspforten der wässerigen Lösung eine bedeutsame Rolle. Jedoch kann, wie BOUSSINGAULT (7) gezeigt hat, eine langsame Aufnahme von gelösten Salzen auch durch die geschlossene Cuticula hindurch auf osmotischem Wege stattfinden. Auf die Aufnahme von Wasser durch die Blattoberfläche soll hier nicht näher eingegangen werden; man findet

1) Vgl. DENARO, Gazz. chim. ital., *16*, 328 (1886). — 2) A. J. VANDEVELDE, Bull. Soc. Chim. Belg., *23*, 84 (1909). — 3) L. VAN ITALLIE u. J. VAN DER ZANDE, Pharm. Weekbl., *53*, 705 (1916). — 4) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *156*, 2023 (1913). — 5) R. SPALLINO, Gazz. chim. ital., *43*, II, 475. — 6) F. TRAETTA MOSCA, Ebenda, p. 437. — 7) BOUSSINGAULT, Agronomie, 6, 364 (1878).

die Literatur hierüber in einer Zusammenstellung von BURGERSTEIN (1) (1891). Erwähnt sei, daß namentlich die über den Blattrippen befindliche Cuticula stärker permeabel zu sein scheint. In historischer Hinsicht sind die Studien von MARIOTTE (1717) und HALES (2) von Bedeutung. Bei Phanerogamen kann das Regenwasser oder Überflutung durch terrestrische Gewässer zur Versorgung der Blätter mit Wasser und Aschenstoffen direkt beitragen; wenn diese Umspülung regelmäßig und längere Zeit hindurch erfolgt kann sie auch von ökologischer Bedeutung sein. Für die Moose ist aber die Wasser- und Mineralstoffaufnahme durch die Blattfläche von größter Bedeutung. Nach KERPELY (3) bewirkt Bespritzen von Tabakblättern mit Kalisalzlösung durch Aufnahme von Kali Förderung des Gedeihens. Natürlich ist die Annahme von REINSCH (4), wonach die höheren Pflanzen regelmäßig und allgemein den größten Teil ihres Kali und ihrer Phosphorsäure aus der Luft auf dem Wege der atmosphärischen Niederschläge erhalten sollen, eine ganz unzutreffende Einschätzung der wahren Bedeutung der Aschenstoffresorption durch die Blätter.

Bei einer Anzahl tropische Regenwälder bewohnender Epiphyten finden sich in den trichterförmig ausgehöhlten Blattbasen (Nischenblättern) und nestartig zusammengestellten Blattrosetten Vorrichtungen, welche unzweifelhaft zum Sammeln von Humus und Auffangen von Regenwasser dienen [SCHIMPER, GOEBEL, HABERLANDT, WENT (5)]. Indem die in diesen Auffangapparaten gesammelten pflanzlichen Reste in Zersetzung übergehen, kann das Wasser Aschenstoffe hieraus auslaugen, welche seitens der Blätter direkt zur Resorption kommen. So ist es bei Asplenium Nidus und anderen Farnen, Orchideen und vielen Bromeliaceen. Bei anderen Bromeliaceen, z. B. bei der schmalblätterigen Tillandsia usneoides, welche sich selbst auf Telegraphendrähten ansiedelt, dienen die durch die schuppenförmig anliegenden Haare geschaffenen Capillarräume zur Speicherung von Regenwasser, und es sind die Haare selbst zur Wasseraufnahme befähigt. ASO (6) zeigte, daß bei Tillandsia usneoides auf diesem Wege Lithiumnitrat eindringt; bei Ananas hatte der Versuch jedoch ein negatives Ergebnis. Nach den Feststellungen von LIESKE (7) ist die Zusammensetzung der Asche von Tillandsien (usneoides und stricta) gegenüber terrestrischen Pflanzen normal; allerdings ist viel weniger Al_2O_3 und SiO_2 darin enthalten, als frühere Analysen angaben. Daß Wasserdampf aus der Luft durch die Schuppenhaare kondensiert wird, ist recht unwahrscheinlich. Das Festhalten von Staubteilchen an den Schuppen läßt sich aber sicher stellen, und dieselbe werden vom Regenwasser offenbar ausgelangt. SCHIMPER zeigte andererseits experimentell, wie bei den vorerwähnten Farnen die Wasserversorgung aus den trichterförmigen Blattbasen völlig zum Gedeihen der Pflanzen aus-

---

1) BURGERSTEIN, Programmaufsatz 1891; WIESNER, Sitz.ber. Wien. Ak., *86*, 241 (1882). KNY, Ber. bot. Ges. (1886), p. XXXVI; WILLE, Cohns Beitr. Biol., *4*, 310 (1887). CHMIELEWSKY, Bot. Zentr., *38*, 790 (1889); GANONG, Ebenda, *59*, 180 (1894). HABERLANDT, Sitz.ber. Wien. Ak., *103*, I, 502 (1894); *104*, I, 96, 110 (1895). PFEFFER, Pflanzenphysiol., II. Aufl., *1*, 140 (1897). — 2) MARIOTTE, Oeuvres (1717), p. 133; HALES, Statick der Gewächse, p. 78. — 3) C. KERPELY, Bot. Zentr., *126*, 639 (1914). — 4) REINSCH, Chem. Zentr. (1871), p. 520. — 5) SCHIMPER, Bot. Zentr., *17*, 192 (1884). Bot. Mitteil. a. d. Tropen, Heft 2 (1888). GOEBEL, Pflanzenbiol. Schilderungen, *1*, 214 (1889). HABERLANDT, Bot. Tropenreise (1893), p. 172. WENT, Ann. Jard. bot. Buitenzorg, *12*, 1 (1894). SCHIMPER, Pflanzengeographie (1898), p. 348. — 6) K. ASO, Flora, *100*, 447 (1910). — 7) R. LIESKE, Jahrb. wiss. Bot., *56*, 112 (1915).

reicht. Auffangen von Regenwasser könnte immerhin auch bei den Blättern von Dipsacus und bei den bauchigen Blattscheiden der Umbelliferen als ökologisches Moment in Betracht kommen.

Sodann sei daran erinnert, daß die fleischverdauenden Pflanzen durch ihre als Fangapparate dienenden Blätter aus den Tierleichen gleichzeitig mit der Stickstoffnahrung reichlich Aschenstoffe gewinnen müssen. Doch zeigt die Vergleichung des Wurzelsystems von Drosera, Pinguicula u. a. nichtepiphytischen Pflanzen, welche Tierfang betreiben, mit dem Wurzelsystem anderer Pflanzen vom gleichen Standort, daß ein Unterschied in der Ausbildung dieser Organe nicht besteht. Deswegen kann ein Zurücktreten des normalen Aschenstoffbezuges durch die Wurzeln bei den Insectivoren kaum angenommen werden. Mit der Resorption von Wasser und Aschenstoffen stehen ferner die nicht für Tierfang eingerichteten Urnenblätter von Dischidia Rafflesiana in Beziehung. Hier werden Wurzeln entwickelt, welche das in den Blatthöhlungen angesammelte Wasser resorbieren (**1**).

§ 4.

Sekretion von Aschenstoffen durch Laubblätter.

Sehr auffallend ist die Absonderung von Aschenstoffen am Rande der Blätter vieler Saxifraga-Arten (Aizoon und verwandte, caesia, squarrosa, Burseriana, oppositifolia u. a.), welche schon UNGER (**2**) eingehend beschrieb. Es handelt sich hier um Ablagerung schuppenförmiger Blättchen von kohlensaurem Kalk, welche sich über den vertieften Randdrüsen der Blätter bilden. BRACONNOT (**3**) beschrieb die ähnlichen Bildungen an Plumbagaceenblättern ebenfalls als Excretion von kohlensaurem Kalk, und in der Folge ist die anatomische Beschaffenheit der bei den Plumbagaceen über die ganzen Blattflächen verbreiteten eingesenkten „Kalkdrüsen" von BARY, VOLKENS, WORONIN, VUILLEMIN (**4**) genauer studiert worden. Derartig gebaute Drüsen finden sich aber noch bei vielen anderen Xerophyten: Tamarix, Reaumuria, Cressa cretica, Frankenia-Arten in ganz ähnlicher Ausbildung. Für Saxifraga crustata hat GARDINER (**5**) den Sekretionsvorgang genauer beobachtet. Er wies nach, daß es sich um Wasserdrüsen handelt, ausgestattet mit Epithem und Wasserspalten, welche den Boden des Grübchens einnehmen. Die Sekretion von Wasser findet hauptsächlich nachts bei schwächerer Transpiration statt, und die Kalkcarbonatablagerungen sind der Verdunstungsrückstand des ausgeschiedenen Wassers, welcher sich in den Grübchen ansammelt und die Drüsen allmählich funktionslos macht. VOLKENS (**6**) zeigte, daß die Drüsen der Blätter von Reaumuria und Frankenia ein hygroskopisches Salzgemisch, worunter $MgCl_2$ und NaCl die Hauptbestandteile zu sein scheinen, produzieren. In ökologischer Hinsicht vermutete VOLKENS, daß die Salzdrüsen imstande seien, den

1) TREUB, Ann. jard. bot. Buitenzorg, *2*, 32 (1882). P. GROOM, Ann. of Bot., *7*, 223 (1893). — **2**) UNGER, Einfluß d. Bodens auf d. Verteil. d. Gewächse (1836), p. 178. — **3**) H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *63*, 373 (1836). TREVIRANUS, Physiologie, *1*, 101 (1838). — **4**) DE BARY, Vergl. Anatomie, p. 113. VOLKENS, Ber. bot. Ges., *2*, 334 (1884). WORONIN, Bot. Ztg. (1885), p. 177. P. VUILLEMIN, Ann. Sci. nat. (7), *5*, 152 (1887). — **5**) W. GARDINER, Quart. Journ. Micr. Sci., *21*, 407 (1881). — **6**) VOLKENS, Flora d. ägypt.arab. Wüste (1886). Ber. bot. Ges., *5*, 434 (1887). MARLOTH, Ebenda, p. 319.

während der Nacht feucht gewordenen Salzausscheidungen das Wasser zu entziehen und für das Blattgewebe zu verwerten. Weit wahrscheinlicher ist es, daß die Kalkdrüsen und ähnliche Organe einfach der Entfernung von Salzen aus der Pflanze dienen. RUHLAND (1) vergleicht die Rolle dieser Drüsen hinsichtlich der Abscheidung von Ca direkt mit der Rolle, welche sonst die Oxalsäure spielt. Nach RUHLAND wäre der Mechanismus dieser Absalzung darin begründet, daß zwischen der Salzdurchlässigkeit in der Wurzel und derjenigen im Blattgewebe eine große Verschiedenheit besteht. Experimentell wurde ferner die Salzausscheidung der Blätter bei Statice Gmelini durch SCHTSCHERBACK (2) verfolgt. Als die abgeschnittenen Blätter mit ihren Stielen in verschiedene Salzlösungen gestellt wurden, ergab sich starke Hemmung der Sekretion durch Kalksalze, hingegen Förderung durch Sulfate und Chloride von Na, K und Mg. Salzausscheidungen sind übrigens wahrscheinlich bei der Mehrzahl der Strandpflanzen vorhanden. Vollkommen sichergestellt sind sie bei Aegiceras corniculatum [SCHMIDT (3)], und nach ARESCHOUG (4) dürften sie möglicherweise noch bei anderen Angehörigen der Mangroveformation vorkommen. MINDEN (5) machte auf einschlägige Vorkommnisse bei Glaux maritima und Nicotiana-Arten aufmerksam. In der Natur können derartige Auscheidungen wegen des Abspülens durch Regen, Tau leicht der Beobachtung entgehen. Bei den genannten salzreiche Substrate bewohnenden Pflanzen finden sich die Salzkrusten über den Wasserdrüsen wohl regelmäßig; daß aber eine große Zahl anderer Pflanzen unter bestimmten Bedingungen Salze durch die Blätter abscheiden, scheint aus den Beobachtungen von ANDRÉE (6) hervorzugehen, eine Angelegenheit, welche weiterer Verfolgung wert ist. Die Kenntnis von den Ausscheidungsorganen ist sehr erheblich durch HABERLANDTS Forschungen (7) gefördert worden. Ob alle Hydathoden, wie seit HABERLANDTS Arbeiten die Wasserdrüsen der Blätter genannt zu werden pflegen, gleichmäßige physiologische Befähigungen zur Ausscheidung von Salzen besitzen, ist nicht genauer bekannt, und es wäre erst sicherzustellen, ob wir es einfach mit Verdunstungsrückständen in den entstehenden Krusten zu tun haben, oder ob die Drüsen eine bestimmte auswählende Tätigkeit in Ausscheidung und Rückhaltung der verschiedenen Mineralstoffe entfalten. Dasjenige, was über den Sekretionsmechanismus der Hydathoden bekannt ist, findet sich kritisch in PFEFFERS Pflanzenphysiologie (I, 259, 2. Aufl.) dargestellt. Zu den Hydathoden gehören nach GOEBEL und HABERLANDT (8) auch die Drüsen in den ausgehöhlten Schuppenblättern des Rhizoms von Lathraea, für welche vordem ganz andere Funktionen vindiciert worden waren. Der Salzreichtum der ausgeschiedenen Flüssigkeit scheint in den meisten Fällen nur sehr gering zu sein, doch steht zu erwarten, daß die oben erwähnten Wüstenpflanzen und Halophyten höher konzentrierte Hydathodensekrete produzieren. Zu den Erscheinungen der Aschenstoffsekretion zählt vielleicht auch das Vorkommen. von Mineralstoffen im Kannensekrete von Insectivoren:

---

1) W. RUHLAND, Jahrb. wiss. Bot., *55*, 409 (1915). — 2) J. SCHTSCHERBACK, Ber. dtsch. bot. Ges., *28*. 30 (1910). — 3) JOHS. SCHMIDT, zit. Flora (1904), p. 157; Flora, *93*, 260 (1904). — 4) ARESCHOUG, Blattbau der Mangrovepflanzen, Stuttgart (1902). Bibl. bot., Nr. 52; Flora (1904), p. 155. — 5) M. v. MINDEN, Beitr. z. anatom. u. physiol. Kenntn. wassersecernierender Organe. Stuttgart (1899). Bibl. bot., Nr. 46, p. 56. — 6) A. ANDRÉE, Ber. bot. Ges., *3*, 313 (1885). BUCHENAU, Ebenda, *1*, 108 (1883). — 7) HABERLANDT, Physiol. Pflanzenanat., 3. Aufl., p. 430 (1904). — 8) GOEBEL, Flora (1897), p. 444. HABERLANDT, Jahrb. wiss. Bot., *30*, 511 (1897). P. GROOM, Ann. of Bot., *11*, 385 (1897).

Nepenthes, Cephalotus, Sarracenia. Nach VOELCKER (1) liefert das Nepentheskannensekret 0,85—0,92 % festen Rückstand, welcher sich auf organische und unverbrennliche Stoffe verteilt.

Aschensecretion fehlt auch im Tierreiche nicht, wovon die Kalkdrüsen der Regenwürmer ein bemerkenswertes Beispiel liefern.

§ 5.
Zum Mineralstoffwechsel der Halophyten.

Der Einfluß des chlornatriumreichen Substrates in der Nähe des Seestrandes, wie an kochsalzreichen Lokalitäten des Binnenlandes auf die Zusammensetzung der Asche zeigt sich nicht nur bei den Gewächsen der Strandflora, welche auf kochsalzarmem Boden sonst nicht gefunden werden, sondern auch bei Binnenlandpflanzen, welche der biologischen Gruppe der Salzpflanzen oder Halophyten nicht angehören. Betula vulgaris und Solanum tuberosum, in unmittelbarer Nachbarschaft des Seestrandes erwachsen, wiesen vollständige Analogie in ihren Aschenstoffverhältnissen mit echten Halophyten auf:

		Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphors.	Schwefelsäure	Chlor
					in Prozenten					
Beta vulgaris Wurzel	nahe dem Strand	6,72	11,21	56,4	3,35	2,69	0,65	5,00	6,04	15,29
"	50 km vom Strand	5,39	18,40	43,97	7,53	3,23	1,30	7,57	3,06	12,30
Beta vulgaris Blätter	nahe dem Strand	12,81	7,10	41,89	12,27	1,59	0,71	4,78	5,81	21,39
"	20 km vom Strand	11,64	6,70	39,95	21,70	0,81	0,55	3,71	7,01	16,61
Solanum tuberosum Knolle	am Strand	3,57	46,67	17,46	0,42	10,55	·	8,23	3,27	12,62
	etwas entfernt hiervon	3,37	56,63	6,46	1,35	10,51	·	12,11	6,32	7,96
Crambe maritima, Blätter (typ. Halophyt)		13,58	2,59	33,84	27,56	·	0,84	8,0	19,78	15,46
Aster Tripolium, Blätter		14,42	16,51	35,96	5,22	2,27	0,62	2,67	2,79	43,00
" " Stengel		8,28	11,81	37,92	4,60	2,29	1,16	1,64	1,86	49,90
Artemisia maritima		17,91	17,37	31,22	9,0	2,43	1,53	5,52	4,86	26,68

(Daten aus WOLFFS Zusammenstellungen.)

Die Anreicherung an Natron und Chlor zeigt sich übrigens selbst im Samennährgewebe, und für Plantago media wurde 22,96% Natron und 20,77% Chlor in der Asche, bei Strandexemplaren im Samen gefunden.

Wahrscheinlich ist die Eigenart der Halophyten nur in der formativen Beeinflussung der Struktur der Vegetationsorgane durch den hohen Chlornatriumgehalt des Substrates zu suchen. Seit SCHIMPERS (2) grundlegenden Untersuchungen bezeichnet man die eigentümliche Organisationen halophytischer Gewächse treffend als xerophytische Struktur, weil in ihr Einrichtungen zur Verminderung der Transpirationstätigkeit das maßgebende Moment sind. Diese Einrichtungen sollen nach der herrschenden Meinung ein Überschwemmen des Organismus mit Salzen, vor allem Chloriden, möglichst verhüten. Wir wissen aus verschiedenen Erfahrungen, die an Halophyten in kochsalzarmem Boden gewonnen sind (3), daß die Sukkulenz

1) A. VOELCKER, Journ. prakt. Chem., *48*, 245 (1849). — 2) A. F. W. SCHIMPER, Indomalayische Strandflora (1891); Pflanzengeographie (1898). STAHL, Bot. Ztg. (1894). WARMING, Lehrb. d. ökol. Pflanzengeographie (1896). O. ROSENBERG, Transpirat. d. Halophyten, Kgl. Vet. Ak. Förh. Stockholm (1897), Sep. — 3) BATALIN, Bot. Zentr., *27*, 92 (1885). LESAGE, Rev. gén. Bot., *2* (1890), für Arthrocnemum vgl. BAUMGÄRTEL, Sitz.ber. Wien. Ak., I, *126*, 41 (1917).

der Blätter und die sonstigen Xerophytencharaktere viel weniger ausgeprägt erscheinen, sobald der NaCl-Reichtum des Bodens gering ist. Das Gedeihen der Pflanzen ist aber im übrigen ein normales.

Im Jugendzustand sind Halophyten nach SANNA (**1**) ebensoreich an NaCl wie alte Exemplare. Selbst auf salzarmen Stellen häufen Halophyten mehr Salz an wie andere Pflanzen. Bis zu einem gewissen Grade scheint bei Halophyten durch Salzreichtum des Substrates das Wachstum begünstigt zu werden. Nach HILLS Beobachtungen an Salicornia und Suaeda (**2**) beträgt der osmotische Druck in den Wurzelhaaren von Halophyten bis 6,7% NaCl. Bei Kultur in süßem Wasser sinkt derselbe. PEKLO (**3**) dachte an eine besondere Rolle des Magnesiagehaltes im Seewasser für Halophyten, doch fehlen hinreichende Gründe für eine solche Annahme.

In § 4 wurde bereits erwähnt, daß die Halophyten in ihren Hydathoden Organe besitzen, mittels welcher bis zu gewissem Grade eine Entfernung von Salzen aus dem Organismus bewerkstelligt werden kann. Daß die Chloride im Stoffwechsel der Halophyten „zersetzt" werden und Chlor (durch die Wurzeln?) zur Abgabe kommt, während die Basen an organische Säuren gebunden werden, war eine von DIELS (**4**) aufgestellte Hypothese, welcher übrigens nach BENECKES (**5**) Nachprüfungen eine tatsächliche Basis vollständig abgeht.

§ 6.

Mineralstoffwechsel von Wasserpflanzen.

Untersuchungen über die in Wasserpflanzen vorkommenden Mineralstoffe wurden seit SCHULZ-FLEETH (**6**) und anderen älteren Autoren öfters vorgenommen. Unser Interesse beanspruchen hier besonders die frei flottierend lebenden Formen. Soweit ersichtlich, weichen die Verhältnisse der frei schwimmenden, submersen und mit Luftblättern versehenen Formen der phanerogamen Wasserpflanzen in bezug auf die Aschenstoffe nicht von denjenigen Verhältnissen ab, die wir bei festgewurzelten Formen finden. Analysenbeispiele:

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphors.	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
	in Prozent									
1. Lemna trisulca .	12,77	18,29	4,06	21,86	6,60	9,57	11,35	7,91	16,05	5,55
2. Stratiotes aloides .	11,97	45,09	3,88	15,70	20,99	0,56	4,20	5,09	2,65	2,41
3. Elodea canadensis	19,22	18,83	6,58	21,17	4,65	12,75	8,86	2,39	20,62	5,54
4. Trapa natans . .	25,55	6,89	1,41	14,91	7,56	29,62	·	2,73	28,66	0,65
5. Posidonia caulini .	10,90	5,70	2,50	38,60	17,8	0,3	0,6	9,0	3,7	—

Analyse 1 stammt von LIEBIG (**7**), Nr. 2 von SCHULZ-FLEETH, Nr. 3 von HOFFMEISTER (**8**), Nr. 4 von GORUP BESANEZ (**9**), Nr. 5 von CHANCEL (**10**). Oft kehrt ein auffallend hoher Eisengehalt der Asche von Wassergewächsen wieder; in den Fruchtschalen von Trapa kann derselbe sogar gegen 70% der Reinasche betragen (GORUP BESANEZ). Doch ist noch durch weitere Untersuchungen festzustellen, wie häufig und wie

---

1) SANNA, Staz. Sper. Agr. Ital., *37*, 137 (1904). — **2**) T. G. HILL, New Phytologist, *7*, 133 (1908). — **3**) J. PEKLO, Österr. bot. Ztsch., *62*, 114 (1912). — **4**) L. DIELS, Jahrb. wiss. Bot., *32*, 309 (1898). — **5**) W. BENECKE, Ebenda, *36*, 179 (1901). — **6**) C. SCHULZ-FLEETH, Pogg. Ann., *84*, 80 (1851). — **7**) J. LIEBIG, Lieb. Ann., *104* (1858). — **8**) W. HOFFMEISTER, Zentr. Agr. Chem. (1879), p. 915. — **9**) GORUP BESANEZ (1861), zit. bei WOLFF, *1*, 133. — **10**) F. CHANCEL, Bull. Soc. Chim. (3), *21*, 740 (1899).

regelmäßig ein hoher Eisengehalt bei Wasserpflanzen beobachtet werden kann. Da die resorbierende Berührungsfläche mit dem umgebenden Medium relativ bedeutend ist, und die terrestrischen süßen Gewässer oft nicht wenig Eisengehalt aufweisen, ist jedenfalls die Gelegenheit zur reichlicheren Aufnahme und Speicherung von Eisen nicht selten geboten. Die Resorption von Aschenstoffen ist bei Lemna-Arten, Trianea bogotensis und anderen Fällen öfters experimentell untersucht worden.

Bei den submers im Boden wurzelnden Wasserpflanzen, ebenso bei Pistia stratiotes geschieht zweifellos Mineralstoffaufnahme durch die Wurzeln [SNELL (**1**)], hingegen soll bei Lemna die Wurzel mehr als mechanischer Faktor, welcher das Umgeworfenwerden verhindert, in Betracht kommen. Immerhin will BIERBERG (**2**) selbst bei Lemna die Absorptionstätigkeit der Wurzeln wenigstens als Nebenfunktion nicht außer acht lassen.

Die meisten Süßwasserpflanzen scheinen gegen steigenden Salzgehalt des Mediums ziemlich empfindlich zu sein. Doch ist dies nicht ausnahmslos der Fall, da BENECKE (**3**) fand, daß Elodea selbst in stark salzhältigem Wasser gut gedeiht. Schwachsaure Reaktion des Mediums pflegt die phanerogamen Wasserpflanzen (wie die Algen) leicht zu schädigen. Leicht alkalische Reaktion übt nach den Erfahrungen BENECKEs nicht den mindesten schädlichen Einfluß aus.

Viele submerse Phanerogamen (Elodea, Potamogeton, Ceratophyllum u. a.), sowie viele Algen (Characeen, Cladophora, Oedogonium u. a.) zeigen, unter natürlichen Verhältnissen gedeihend, häufig eine starke Inkrustation mit Kalk, die man nicht auf eine äußere im Wasser unabhängig von der Pflanze stattfindende Zersetzung der im Wasser gelösten sauren Carbonate zurückführen kann. Denn es bilden die abgetöteten Pflanzen diese Kalkkrusten nicht mehr aus. Auch die kalkhaltige, berieselte Felsen bewohnenden und inkrustierten Moose (Eucladium verticillatum, Trichostomum tophaceum, Pellia calycina u. a.) bilden nach UNGERs (**4**) Feststellungen die Inkrustationen an toten Rasen nur viel schwächer aus, als an lebenden. Eine passive Inkrustation kommt daher viel weniger in Betracht als die aktive Tätigkeit der lebenden Pflanzen. PRINGSHEIM (**5**) hat gezeigt, daß die Entstehung von Ablagerungen von krystallinischem Calciumcarbonat an verschiedenen Versuchsobjekten in kalkhaltigem Wasser nur im Lichte bei kräftiger Kohlensäureassimilation erfolgt. Ob man aber das Recht hat, im Sinne älterer Anschauungen auch die natürlichen Kalkinkrustationen als Effekt einer Zerlegung der im Wasser gelösten sauren Kalkcarbonate durch Entziehung von CO_2 durch assimilierende Pflanzen zu erklären, erscheint fraglich. HASSACK (**6**) konnte ebenfalls feststellen, daß nur bei kräftiger CO_2-Assimilation die Kalkkrusten entstehen, doch ergab sich in diesen Untersuchungen, daß nicht allein saure Carbonate von Ca, sondern auch Darreichung anderer Kalksalze: $CaSO_4$, $CaCl_2$, $Ca(NO_3)_2$, $Ca[COO \cdot CH_3]_2$ den erwähnten Effekt hatten. Auch konnte eine Inkrustation bei Exposition von Zygnema und Spirogyra in kalkhältigem Wasser bei heller Beleuchtung nie hervorgerufen werden, ebensowenig an untergetauchten Blättern von Landpflanzen. Da nun HASSACK, wie schon vorher KLEBS (**7**) bei Chara und Oedogonium während der Assimilation eine Ausscheidung von Alkali mittels

---

1) K. SNELL, Flora, *98*, 213 (1907). — **2**) W. BIERBERG, Ebenda, *99*, 284 (1909). — **3**) W. BENECKE, Bot. Ztg. (1898), I, 88. — **4**) UNGER, Sitz.ber. Wien. Ak. (1861), *2*, 509. — **5**) N. PRINGSHEIM, Monatsber. Ak. Berlin, 16. Juni 1881; Jahrb. wiss. Bot., *19*, Heft 1 (1888). — **6**) C. HASSACK, Unters. bot. Inst. Tübingen, *2*, 465 (1887). — **7**) G. KLEBS, Ebenda, 340 (1886). HASSACK, l. c., p. 476.

Phenolphthalein oder Zerlegung von Berlinerblau-Niederschlägen, die man vorher in die Zellwände eingelagert hatte, sicherstellen konnte, so liegt es nahe, mit HASSACK eine Beziehung der Entstehung der Kalkinkrusten zu einer Abscheidung von Alkalicarbonat anzunehmen. Diese Verhältnisse wurden schon Bd. I, p. 518—519 näher diskutiert. LOEW (**1**) hob die Möglichkeit hervor, daß es sich um kolloidal gelöstes Calciumcarbonat handeln könnte, das sich sodann an den Pflanzenteilen niederschlägt. LOHMANN (**2**) fand die alkalische Sekretion auch bei der mit Kalk inkrustierten Pellia epiphylla auf. Die Manganspeicherung in den Zellmembranen von submersen Wasserpflanzen verhält sich in den Hauptzügen ganz analog (**3**). Bemerkenswert sind die von F. MAYR (**4**) aufgefundenen lokalisierten Epidermiszellgruppen bei vielen Wasserpflanzenblättern, welche wässerige Lösungen viel leichter durchtreten lassen als das übrige Hautgewebe („Hydropoten“).

§ 7.

Mineralstoffwechsel phanerogamer Parasiten.

In der Zusammensetzung der Asche phanerogamer Parasiten treten Differenzen hervor, je nachdem die Pflanzen „Wurzelparasiten“, wie Thesium, Euphrasia und „Wasserparasiten“ (Loranthus, Viscum) oder Holoparasiten darstellen, wie die nicht Kohlensäure assimilierenden und nicht chlorophyllgrünen Formen der Balanophoraceen, Orobanche, Cuscuta usw. Die vorhandenen Untersuchungen sind noch recht lückenhaft. Von grünen Parasiten wurde Viscum album am häufigsten analytisch untersucht, schon von ERDMANN, FRESENIUS und WILL, GRANDEAU, COUNCLER u. a. (**5**). Es fiel den älteren Beobachtern vor allem auf, daß die Pflanze in der Zusammensetzung ihrer Asche vollkommen unabhängig ist von ihrem Wirt. Im übrigen unterscheidet sich die Viscumasche in ihrer Zusammensetzung von der Asche autotropher grüner Pflanzen nur wenig. Nach GRANDEAU und COUNCLER ergab sich bei den Analysen:

	Wirtspflanze (befallener Ast)			Viscum auf:		
	Pappel	Robinia	Tanne	Pappel	Robinia	Tanne
Reinasche . . .	3,037	2,063	1,609	3,461	2,132	3,139
P_2O_5	4,769	4,453	7,887	26,289	12,025	13,109
SO_3	1,490	0,784	2,798	2,088	2,741	3,353
SiO_2	5,813	11,773	2,033	4,791	6,413	1,219
CaO	66,467	75,038	67,429	32,555	45,392	27,133
MgO u. Mn_3O_4 .	8,196	2,511	7,124	9,213	6,723	12,194
Fe_2O_3	2,384	1,884	1,017	5,405	2,198	1,524
K_2O	6,557	2,354	8,396	16,093	15,903	30,791
Na_2O	2,682	0,471	2,033	2,038	2,585	Spur
Cl	1,639	1,726	1,272	1,474	2,017	„

1) O. LOEW, Flora (1893), p. 419. Über Kalkinkrustation bei Potamogeton: WIBEL u. ZACHARIAS, Ber. chem. Ges., *5*, 182 (1873). — **2**) J. LOHMANN, Beihefte bot. Zentr., *15*, 229 (1903). — **3**) Vgl. M. PERUŠEK, Sitz.ber. Wien. Ak., I, *128*, 3, (1919). — **4**) F. MAYR, Beihefte bot. Zentr., *32*, I, 278 (1915). — **5**) C. ERDMANN, Lieb. Ann., *94*, 254 (1855); FRESENIUS u. WILL, Journ. prakt. Chem., *38*, 30; REINSCH (1861), zit. bei WOLFF, *1*, 145; LECLERC, Ebenda, *2*, 102. H. GRANDEAU u. A. BOUTON, Compt. rend., *84*, 129, 500 (1877). COUNCLER, Bot. Zentr., *40*, 123 (1889).

Ferner in 1000 Teilen Trockensubstanz bei Viscum auf Kiefern (COUNCLER):

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	Mn_3O_4	Fe_2O_3	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl	Reinasche
Kiefernzweig.	1,613	0,278	9,665	0,478	0,095	0,140	0,599	0.513	0.119	·	13,500
Viscumstengel	16,706	0,560	11,848	3,465	0,172	0,276	6,241	3,306	0,522	·	43,096
Viscumblätter	33,324	1,306	19,172	3,698	0,065	0,430	8,864	5,807	8,443	·	81,109

Kritische Bemerkungen zu den Viscumanalysen hat TUBEUF (1) geliefert. Jedenfalls darf man die Aschenstoffverhältnisse der Viscumpflanze mehr mit krautartigen Teilen autotropher Pflanzen vergleichen, als mit dem Mineralstoffgemisch in dem holzigen Zweige der Wirtspflanze. Von diesem Standpunkte aus erscheint der hohe Phosphorsäuregehalt und Kaligehalt von Viscum nicht unerwartet, und auch die Mengenverhältnisse von Kalk und Magnesia weichen, soweit ersichtlich, nicht sehr von den in Blättern und jungen Sprossen gefundenen ab, wenngleich es nicht ausgeschlossen ist, daß Viscum regelmäßig etwas mehr Magnesia im Verhältnis zum Kalk enthält, als es sonst bei assimilierenden Organen die Regel ist. In welcher Form Viscum die Aschenstoffe aus seiner Wirtspflanze bezieht, ist nicht bekannt, und es bleibt auch noch zu untersuchen, wie weit der Bezug von Mineralstoffen aus dem Wirt durch direkte Darreichung geeigneter Aschenstoffnahrung zu ersetzen ist.

Die übrigen Hemiparasiten sind hinsichtlich ihrer Mineralstoffnahrung sehr wenig erforscht und von den meisten grünen Parasiten Aschenstoffanalysen überhaupt noch nicht vorgenommen. Über die Bedingungen des bei einigen hemiparasitischen Rhinanthaceen in autotropher Kultur leicht zu beobachtenden Eintrittes von Chlorose sind Angaben von HEINRICHER (2) zu vergleichen. Erwähnt sei, daß DANIEL und THOMAS (3) auch Chlorose bei „im Keimen“ gepfropften Bohnen infolge Störung der Mineralstoffaufnahme beobachten konnten.

Von Holoparasiten wurden insbesondere Cuscuta-Arten öfters untersucht. KNOP (4) fand in blühender Cuscuta europaea 6,43% Reinasche in der Trockensubstanz. Von der Asche waren 74,65% Kali, 2,49% Kalk, 3,11% MgO, 2,49% Eisen, 10,42% Phosphorsäure, 1,09% Schwefelsäure und 5,75% SiO_2. In Cuscuta Epithymum fand ZÖBL (5) gleichfalls viel Kali (39,2%), Magnesia und Phosphorsäure (26,7%), aber wenig Kalk. Das allgemeine Bild der Zusammensetzung der Asche von Holoparasiten nähert sich überhaupt mehr den Verhältnissen bei Reservestoffbehältern und protoplasmareichen embryonalen Geweben. Auch für die Asche von Balanophora fand SUDA (6) Armut an Kalk und relativ großen Reichtum an Magnesia: Aschengehalt war 7,81% der Trockensubstanz, der Gehalt der Asche an CaO war 0,129%, an MgO 0,244%. ASO (7) konstatierte bei der saprophytischen Orchidee Gastrodia elata Bl., daß in oberirdischen und unterirdischen Teilen dieser Pflanze etwa gleichviel Kalk und Magnesia vorkommen, während sonst die CaO-Menge bedeutend bei grünen Pflanzen überwiegt.

Ob dies nur auf die geringere Entwicklung des Zellhautgerüstes zurückzuführen ist, oder ob, wie wahrscheinlich, andere wichtige Stoffwechselfunktionen mitbeteiligt sind, ist ungewiß.

---

1) v. TUBEUF, Bot. Zentr., *41*, 43 (1890). Über Viscum auch N. VAN POETEREN, Tijdschr. over Plantenz., *18*, 101 (1912). — 2) E. HEINRICHER, Jahrb. wiss. Bot., *37*, 269 (1902). — 3) L. DANIEL u. V. THOMAS, Compt. rend., *135*, 509 (1902). — 4) W. KNOP, bei WOLFF, *1*, 140 (1862). — 5) ZÖBL, Haberlandts wiss.prakt. Untersuch., *1*, 183 (1875). — 6) T. SUDA, Bull. Agric. Coll. Tokyo, *5*, 263 (1902). — 7) K. ASO, Ebenda, *4*, 387 (1902). Aschenanalysen von Neottia, Monotropa, Cuscuta, Lathraea und Orobanche ferner bei J. ZELLNRE, Monatsh. f. Chem., *40*, 293 (1919).

Holosaprophyten sind hinsichtlich ihres Mineralstoffwechsels kaum untersucht. Unbekannt ist für die Holoparasiten ferner, in welcher Verbindungsform die einzelnen Aschenstoffe zur Resorption kommen und ob man dieselben in künstlicher Ernährung irgendwie ersetzen kann.

Sechsundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel im Fortpflanzungssystem.**

§ 1.

Die Mineralstoffe von Blütenteilen und Pollen.

Die analytischen Angaben über Aschengehalt von ganzen Blüten bieten, soweit vorliegend, wenig Interesse. Nach NYGARD (**1**) enthalten in der Trockensubstanz die Drogen von

Flores arnicae	8,54%	Asche
„ chamomillae . . .	10,44%	„
„ lavandulae	9,91%	„
„ viol. tricolor. . . .	11,83%	„

In Thea chinensis-Blüten fanden PERROT und GORIS (**2**) 10% Wasser und 9,2% Asche; in letzterer ist Mn und Fe nachzuweisen. Frische Blütenkätzchen von Julocroton fuscescens Baill. nach PECKOLT (**3**) 61,66% Wasser und 3,5% Asche. In der Safranasche soll nach VERDA ein Borsäuregehalt ganz normal sein (**4**). Die Blüten von Caltha palustris enthalten nach KEEGAN (**5**) in der Asche an löslichen Salzen 55,2%, SiO_2 5,3%, CaO 9,2%, Mg 6,2%, PO_4 10,9%, SO_4 7,1%, Cl 5,5%, wenig Mn und viel lösliche Carbonate.

Die Pollenzellen schließen sich hinsichtlich der Aschenstoffe anderen reservestoffreichen Organen ziemlich genau an. Der Gesamtaschengehalt ist meist niedrig, die Asche reich an Phosphorsäure und Kali, auch Magnesia, arm aber an Kalk. Schon FOURCHROY und VAUQUELIN (**6**) wiesen 1803 im Blütenstaub der Dattelpalme Phosphorsäure und Magnesium nach, desgleichen BRACONNOT (**7**) im Pollen von Typha latifolia.

Als Reinaschezahlen wurden gefunden für:

Pinus silvestris. . . .	3,3 %	v. PLANTA, Landw. Versuchsstat., *32*, 215 (1885).
Pinus silvestris. . . .	5,5 %	K. KRESLING, Arch. Pharm., *229*, 389 (1891); hiervon 2,5% mechanisch beigemengt.
Cupressus fragrans . .	3,70%	A. H. CHURCH, Journ. of Bot., *4*, 169 (1875).
Corylus Avellana . . .	3,81%	PLANTA, l. c. u. ibid., *31*, 97 (1884).
Beta vulgaris	9,18% 7,13%	A. STIFT, Bot. Zentr., *65*, 43; *88*, 105 (1901).
Ambrosia artemisiifolia Asche bei 5,3% Wassergehalt	5,4%	FR. W. HEYL, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 1470 (1917) (**8**).

---

1) A. NYGARD, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125. — **2**) E. PERROT u. A. GORIS, Bull. Sci. Pharm., *14*, 392 (1907). — **3**) TH. PECKOLT, Ber. pharm. Ges., *15*, 183 (1906). — **4**) A. VERDA, Schweiz. Wochschr. Chem. Pharm., *51*, 631 (1913). **5**) KEEGAN, Chem. News, *112*, 295 (1915). — **6**) FOURCROY u. VAUQUELIN, Gilberts Ann., *15*, 298 (1803). — **7**) H. BRACONNOT, Ann. Chim. et Phys. (2), *42*, 91 (1829). — **8**) KOESSLER, Journ. Biol. Chem., *35*, 415 (1918) fand im Pollen von Ambr. artemisiifolia und trifida 10,6% Asche bei 10,5% Wassergehalt.

Die Asche des Kiefernpollens enthält nach PRZYBYTEK und FAMINTZIN (1):

35,23 % K_2O	5,3 % Fe_2O_3 und Al_2O_3
3,62 % Na_2O	29,86 % P_2O_5
7,00 % MgO	14,83 % SO_3
0,88 % CaO	0,99 % Cl und eine Spur Mangan.

Die Zahlen in Prozenten der Reinasche angegeben. Die Asche ist demnach zusammengesetzt wie diejenige eines typischen Speicherorgans.

§ 2.

Die Mineralstoffe von Früchten.

Der Einfluß, welchen die Befruchtung der Samenanlagen auf die Weiterentwicklung der Carpelle nimmt, äußert sich in sehr verschiedener Weise. In vielen Fällen hat er nur zur Folge, daß sich die Carpelle bis zu einem bestimmten Grade durch Wachstum vergrößern, und hierbei ihren normalen Entwicklungsgang als grünes, Kohlensäure assimilierendes Organ vollenden und zur Zeit der Samenreife einfach vertrocknen. So entstehen die Mehrzahl der Kapselfrüchte, die Hülsen der Leguminosen, die Schoten der Cruciferen usw. Die Carpelle erfüllen hier die Funktion eines Schutzorganes und dienen als assimilierendes Organ. Biochemisch kann man kaum Unterschiede von anderen Assimilationsorganen statuieren, und deswegen kann die Gruppe solcher Früchte als „assimilierende" vom Standpunkte der Stoffwechselphysiologie aus bezeichnet werden. In anderen Fällen hat der Befruchtungsreiz hinsichtlich der Weiterentwicklung der Carpelle zur Folge, daß das Gewebe derselben sehr massive, harte Zellwände ausbildet, holzig wird, sklerosiert. Die Zellen sterben bald ab und die Schale der reifen Frucht besteht aus einem aus toten Zellen mit stark verdickten Zellwänden zusammengesetzten Schutzorgan. Die Sklerosierung kann aber auch, wie bei den Steinfrüchten, nur bestimmte Gewebekomplexe der Carpelle betreffen. Hier tritt die Funktion als Assimilationsorgan bald in den Hintergrund und die Bedeutung als Schutzorgan ist hier die hervorragendste. Dies die Gruppe der „sklerosierten Früchte". Eine dritte Gruppe von Früchten weicht in ihrem Stoffwechsel von den erwähnten beiden Gruppen bedeutend ab. Das Gewebe der Carpelle ist wie bei den assimilierenden Früchten den größten Teil der Lebenszeit als Kohlensäure assimilierendes Gewebe tätig, vermehrt jedoch im Laufe der Zeit, besonders in den Endstadien der Reife, beträchtlich seinen Gehalt an Zucker, seltener tritt Fett als Speichermaterial auf, und die reifen Früchte stellen fleischige zuckerreiche Organe dar: „Speicherfrüchte". Das gespeicherte Material strömt zum großen Teile den reifenden Früchten aus den Laubblättern zu, wird aber zum Teil auch autochthon formiert. Bei der Banane sehen wir die unreifen Früchte äußerst reich an Stärke, welche schließlich verschwindet und einem reichlichen Vorrat an Zucker Platz macht. Bei der Olive tritt in den

---

1) S. PRZYBYTEK u. FAMINTZIN, Journ. russ. phys.chem. Ges. (1885), I, 371. Ber. chem. Ges., *19*, 32 (1886).

unreifen Früchten Mannit in großen Mengen auf, an dessen Stelle in den späteren Stadien fettes Öl tritt. Diese Verhältnisse haben an verschiedenen Stellen des Buches ihre Würdigung gefunden und müssen nun auch hinsichtlich der Aschenstoffe eingehende Berücksichtigung erfahren. Die biochemische Bedeutung der so reichlichen Zuckerspeicherung in Früchten ist ziemlich unklar, und wir können nur einzelne biologische Momente, wie die Anlockung von Tieren im Dienste der Samenverbreitung, hierbei als mitwirkend erkennen, ohne ein Bild vom ganzen Zusammenhang dieser weit verbreiteten und wichtigen Lebenserscheinungen zu erhalten.

Assimilierende Früchte. Wie in Laubblättern, so pflegt auch in assimilierenden Früchten der Gehalt an Mineralstoffen ein ziemlich hoher zu sein. Aus dem vorhandenen Analysenmaterial seien folgende Zahlen hervorgehoben:

	Reinasche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl
Elettaria Cardamomum (1)	4,19	10,42	20,43	13,33	4,52	0,51	6,00	12,66	24,81	2,54
Piper nigrum (2) . . .	·	5,10	·	35,12	9,54	2,22	29,34	3,24	·	·
„ longum (3) . . .	7,15	·	·	·	·	·	·	·	·	·
Humulus Lupulus (4) . .	6,42	33,14	1,18	12,45	6,14	1,01	29,2	3,72	12,14	1,00
Illicium anisatum (5) . .	2,16	·	·	·	·	·	·	·	·	·
„ religiosum (5) .	2,02	·	·	·	·	·	·	·	·	·
Anamirta Cocculus (5) . .	5,20	·	·	·	·	·	·	·	·	·
Ceratonia siliqua . . .	2,30	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gleditschia glabra . . .	3,00	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Medicago lupulina (6) . .	13,44	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rhamnus cathartica (5) .	2,80	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Vicia Faba	5,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Lupinus luteus	2,16	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aesculus Hippocastan. .	5,50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hibiscus esculentus (7) .	1,41	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Coriandrum sativum (8) .	4,76	35,16	1,28	22,10	12,21	1,18	18,55	6,54	1,03	2,51
Foeniculum officinale (8) .	7,09	31,96	2,38	19,54	14,03	2,12	16,47	9,98	0,87	3,41
Anethum graveolens (8) .	6,31	31,61	2,11	26,51	7,45	1,96	17,32	6,72	2,50	4,88
Carum Carvi (9)	5,33	26,31	6,54	18,04	8,27	3,57	24,29	5,39	4,98	3,10
Dipsacus Fullonum (9) .	4,20	32,22	6,67	39,12	5,08	1,32	4,64	6,67	1,99	Spur
Capsicum annuum (10) .	4,85	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Cucumis sativus (11) . .	11,93	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Der Kali- und Kalkgehalt pflegt wie bei den Laubblättern hoch zu sein.

Die Veränderungen der Mineralstoffe während der Reife assimilierender Früchte sind noch nicht in genügender Zahl von analytischen Untersuchungen festgestellt worden. WOLFF (12) fand bei der Analyse der Fruchtschale von Aesculus Hippocastanum:

	Asche	Kali	Kalk	Magnesia	Phosphors.	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor
im unreifen Zustande	3,70	58,77	9,93	2,24	20,83	3,66	0,76	4,77
im reifen Zustande .	5,50	75,91	8,81	1,14	5,28	1,01	0,57	9,72

Sklerosierte Früchte haben im reifen Zustande einen Aschengehalt und eine Zusammensetzung ihrer Asche, welche an die Verhältnisse

1) YARDLEY, Chem. News (1899), p. 122. — 2) RÖTTGER, Jahresber. Agr.chem. (1885), p. 107. — 3) A. WANGERIN, Chem. Zentr. (1903), II, 214. — 4) F. FARSKY, Zentr. Agr.chem., *11*, 427 (1882). — 5) WARNECKE, Pharm. Ztg. (1886), p. 536. — 6) A. PETERMANN, Zentr. Agr.chem. (1888), p. 430. — 7) A. ZEGA, Bot. Zentr., *87*, 292 (1901). — 8) E. v. WOLFF, Zentr. Agr.chem. (1880), p. 382. — 9) SESTINI, Just (1888), I, 58. — 10) B. BITTÓ, Ebenda (1892), I, 433. — 11) RUBNER, Arch. An. u. Phys., 1916, p. 151. — 12) E. WOLFF, Journ. prakt. Chem., *44*, 385 (1848).

des Holzkörpers des Stammes erinnern. Der Aschengehalt ist relativ klein und die Asche weist einen ansehnlichen Gehalt an Kalk auf. Auch Eisen, Kieselsäure sind mitunter reichlich zugegen.

Analysenbeispiele:

	Asche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure
Prunus domestica, Steinschale	0,26	21,69	7,69	28,06	3,77	2,32	27,29	6,61	2,57
Fagus silvatica	1,42	1,32	24,44	49,57	3,50	0,98	2,17	1,81	2,94
Olea europaea, Steinkern	1,84	60,1	6,60	7,45	0,37	0,81	16,74	3,27	—
Juglans regia	·	23,1	2,74	30,57	4,13	5,34	4,73	14,96	14,43
Alnus incana	2,58	32,33	2,33	34,44	7,74	2,11	16,17	2,20	1,83
„ glutinosa	1,71	28,98	1,07	29,28	11,68	4,72	14,07	4,00	5,38
Trapa natans	1,24	—	—	—	—	—	—	—	—
Juglans regia, Nußschalen (1)	1,36	—	—	—	—	—	—	—	—

Speicherfrüchte haben in Quantität und Zusammensetzung der Asche, welche in den meisten Fällen reich an Kali und PO_4, aber arm an Kalk ist, Ähnlichkeit mit den Samennährgeweben. Die Asche von Kernobst ist nach HOTTER (2) reich an K_2O (48—53%) und arm an Erdalkali, hingegen enthält Beerenobst relativ weniger Kali und mehr Ca, Mg und PO_4. Einige Angaben über Gesamtaschegehalt:

	Proz. Asche	
Morus alba, Beerensaft	11,28	
Phoenix dactylifera, Fruchtfleisch	2,24	Jahresber., Agr.-Chem. (1895), p. 377.
Ficus Carica	2,86	
Ribes Grossularia	3,39	
Pirus Malus im Mittel	0,31	
Pirus communis im Mittel	0,31	KÖNIG, Zentr. Agr.-Chem. (1880), p. 239.
Prunus domestica im Mittel	0,71	(KÖNIG, s. o.)
Prunus Cerasus	2,20	
Prunus spinosa	1,58	
Mespilus germanica	3,27	BERSCH, Landw. Vers.st., *44*, 471 (1895).
Fragaria vesca	3,40	
Rubus Idaeus	0,56	SEYFFERT, Just (1879), I, 342.
Rubus Idaeus	3,35	A. NYGARD, Farm. Notisbl. (1909), Nr. 9, p. 125.
Vitis vinifera	1,21	
Opuntia vulgaris	1,76	LIGHT, Just (1885), I, p. 84.
Opuntia brasiliensis	1,43	HAMLET, ibid. (1890), I, p. 91.
Citrus Aurantium	3,08	
Vaccinium Vitis Idaea	0,15	
Vaccinium Myrtillus	2,87	BORGGREVE, ibid. (1886), I, p. 146.
Olea europaea	2,30	
Solanum Lycopersicum, Schale	0,03	BRIOSI und GIGLI.
Solanum Lycopersicum, Fleisch	0,97	(BRIOSI und GIGLI, s. o.)
Solanum carolinense	6,55	KRAUSS, Amer. Journ. Pharm. (1891), p. 65.
Lonicera Xylosteum	6,62	
Cucurbita Pepo, Fleisch	0,63—1,53	STORER u. LEWIS, Zentr. Agr.-Chem. (1879), p. 41.
Cucurbita Pepo, Rinde	1,02—1,50	(STORER u. LEWIS, s. o.)

1) RUBNER, Arch. An. u. Phys. 1915, p. 240. — 2) E. HOTTER, Ztsch. landw. Vers.wes. Öst., *9*, 747 (1906).

Ferner von neueren Analysen:

	Proz. Asche	
Anona Cherimolia	6,97	Cutolo, Staz. Sper. Agr. Ital., *48*, 889 (1915).
Pirus communis	2,11	Rubner, Arch. An. u. Phys. 1915, p. 240.
Arbutus Unedo bei 68,64% Wassergehalt	0,54	Mohorčič, Arch. Hyg., *86*, 248 (1917).

Nach Lührig (**1**) ergab sich für vergorene Fruchtsäfte:

	Gesamtasche	wasserlösl. Asche
Ribes rubrum	0,6284–0,4624	0,5784–0,3535
Ribes nigrum	0,7422	0,6198
Prunus avium	0,7368–0,4768	0,6224–0,398
Vaccinium Myrtillus	0,2904–0,2568	0,236 –0,1996
Rubus idaeus	0,5588–0,3482	0,480 –0,2934
Brombeeren	0,5008–0,3976	0,4156–0,3088

Viele Analysen von brasilianischen Solaneenfrüchten finden sich bei Peckolt (**2**). Bananenmehl, in zwei Mustern analysiert von Schellmann (**3**) ergab an Wassergehalt 19,64 und 12,63%, an Asche 0,79–0,95 bzw. 1,57 bis 1,77%.

Weitere Zahlen, zugleich mit Angaben über die prozentische Zusammensetzung der Asche von fleischigen Früchten bringt die nachstehende Tabelle (**4**):

	Asche	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	P_2O_5	SO_3	SiO_2	Cl	Al_2O_3	Mn
Ananas sativus .	0,95	45,23	6,75	6,13	9,79	—	23,18	3,06	5,77	Spur		
Musa sapientum .	·	28,36	26,27	18,91	9,21	1,46	1,30	6,75	5,93	2,69		
Ficus Carica . .	·	32,23	19,63	24,57	—	—	13,47	7,12	2,34	0,83		
Morus alba . .	·	49,97	9,02	12,15	8,80	1,55	5,46	·	4,02	10,75		
Ribes rubrum .	0,41	49,67	·	19,76	6,49	1,26	22,82	·	·	·		
„ Grossularia	·	38,65	9,92	12,20	5,85	4,56	19,68	5,89	2,58	0,75		
Rosa canina . .	2,43	23,53	2,40	26,78	7,73	0.52	9,37	3,65	0,67	0,30		
Rubus fruticosus	·	51,62	·	17,22	5,30	1,42	24,63	·	·	·		
Fragaria vesca .	0,43	41,40	1,29	12,21	2,93	·	11,70	3,88	·	·		
Prunus Cerasus .	·	51,85	2,19	7,47	5,46	1,98	15,97	5,09	9,04	1,35		
„ domestica	·	54,59	9,05	4,86	4,69	2,54	17,70	3,23	3,15	0,38		
„ spinosa .	·	45,98	5,66	12,65	8,17	1,19	13,83	2,37	9,22	0,40		
„ Armeniaca	·	59,36	—	—	—	—	13,09	—	—	—		
Pirus Malus . .	·	35,68	26,09	4,08	8,75	1,40	13,53	6,09	4,32	·		
„ communis .	·	54,69	8,52	7,98	5,22	1,04	15,20	5,69	1,49	·		
Citrus Aurantium	·	36,42	13,47	24,52	8,06	0,46	11,07	3,74	0,44	2,35		
Vitis vinifera . .	1,52	33,04	·	8,55	2,61	1,04	21,08	4,54	1,00	·		
„ „ . .	1,14	34,67	·	11,00	1,42	0,45	19,72	4,19	0,45	·		
„ „ . .	2,36	48,46	·	7,33	3,75	0,10	7,36	4,89	1,71	·		
Olea europaea .	·	81,93	7,53	7,45	0,18	0,72	1,33	0,05	0,65	0,16		
Vaccinium Myrtillus . . .	·	57,11	5,16	7,96	6,11	1,12	17,38	3,11	0,89	—		
Himbeersaft . .	0,483	28,96	·	21,7	1,45	·	0,93	12,4	·	0,37	·	·
Viburn. Lentago	2,35	23,25	17,77	2,58	1,65	6,77	24,46	4,5	·		13,74	0,013
Diervilla florida .	3,50	31,70	5,69	14,81	8,88	2,96	11,76	11,59			10,15	0,13
Adansonia digitata . .	4,76–6,1	·	·	·	·	·	1,08	·	·	·	·	·

1) H. Lührig, Ztsch. Unters. Nahr. Gen. mittel, *10*, 714 (1906). — **2**) Th. Peckolt, Ber. pharm. Ges., *19*, 180 u. 292 (1909). — **3**) W. Schellmann, Der Pflanzer, *2*, 353 (1906). — **4**) Lit. Wolff, Aschenanalysen; Ricciardi, Just (1885), I, 83 (Musa). Munro, Ebenda (1885), I, 79 (Fragaria). Colby, Ebenda (1894), I, 392 (Prunus).

Ferner von neueren Analysen (1):

	Asche	Kali	Na_2O	CaO	MgO	PO_4	SO_3	SiO_2	Al_2O_3	Fe	Mn	Cl
Crataegus monogyna	3,18	27,65	28,17	15,16	4,77	10,91	2,07	1,36	10,78	0	.	.
Clintonia borealis	4,87	19,26	17,66	9,14	7,66	25,73	5,85	0,81	2,29	2,82	0,26	7,18
Arctostaphyl. Uva ursi	2,9	9,37	9,03	23,1	4,98	14,94		Spur	0	0	.	.
Vaccinium corymbosum	1,38	5,65	2,62	18,11	11,48	14,36	10,94	6,33	17,39	10,5	0,35	.
Smilax rotundifolia	3,06	32,38	5,28	0,79	0,24	13,38	7,92	0,08	17,6 (Al₂O₃ + Fe)		0,76	
Asparagus officinalis	3,5	5,35	8,73	3,52	6,09	25,01	7,91	2,53	0,98	2,53	.	.

Die Verhältnisse von Phosphorsäure und Eisen beleuchten nachstehende Analysenzahlen von HAENSEL (2) bei verschiedenartigen Früchten.

	In Proz. der Trockensubstanz			In Proz. der Asche	
	Asche	P_2O_5	Fe_2O_3	P_2O_5	Fe_2O_3
Grüne Bohnen	5,80	1,0767	0,108	18,69	1,862
Gelbe Bohnen	3,60	0,8952	0,046	24,79	1,277
Tomate	6,34	0,8850	0,010	13,903	0,1577
Apfel	0,95	0,0969	0,004	10,2	0,421
Banane	1,994	0,2244	0,002	11,254	0,1003
Trockene Feige	2,88	0,1300	0,044	4,51	1,5277
Erdnuß	2,404	1,0151	0,004	43,741	0,1664
Haselnuß	2,23	0,8594	0,012	39,435	0,5381
Walnuß	2,112	0,9896	Spur	46,856	Spur
Paranuß	2,87	1,3797	0,016	48,004	0,5575
Cocosnuß	0,956	0,3188	0,008	33,207	1,0416
Mandel	2,836	0,8620	0,010	30,395	0,3526

Leider ist bei einer Reihe der letzt angeführten Früchte Samen und Fruchtanteil nicht getrennt analysiert worden, was in dem bedeutenden PO_4-Anteil hervortritt. Die Formen des Phosphors in den Traubenbeeren wurden von VENTRE (3) näher untersucht und darin anorganische P und Lecithin P bestimmt.

Von Interesse sind weiter die Angaben über den Eisengehalt von Trapa natans, welchen SOAVE (4) eingehend analytisch studierte. Ruhende Früchte enthielten in Kern und Schale 11,8 resp. 9,1% Trockensubstanz, 0,31 resp. 0,166% Asche und Eisen von der Trockensubstanz 0,0256 resp. 0,084%, von der Asche 8,26 resp. 50,60%. Die anderen Teile der Pflanze sind weit entfernt von diesem enormen Eisengehalt, den die Fruchtschale aufweist. SOAVE fand:

HILGER, Landw. Vers.stat., *23*, 451 (1879) (Vitis); BORGGREVE, Just (1886), I, 146 (Vaccinium); WITTMANN, Chem. Zentr. (1904), I, 820 (Rosa); A. BEYTHIEN u. WATERS, Ztsch. Unters. Nahr.Gen.mittel, *10*, 726 (1906) (Himbeersaft); C. E. GILLETTE, Chem. News, *103*, 205 (1911) (Viburnum). L. E. DAWSON, Ebenda, *106*, 18 (1912) (Diervilla); R. G. PELLY, Journ. Soc. Chem. Ind., *32*, 778 (1913) (Adansonia).

1) MARSTON, Chem. News, *110*, 310 (1914) für Crataegus; SLIPPY, Ebenda, *111*, 2 (1915) für Clintonia; SHIPPEE u. FOGDE, Ebenda, *117*, 254 (1918) für Arctostaphylos; HARRIS u. THRAMS, Ebenda, *114*, 73 (1916) für Vaccinium; POGERS, Ebenda, p. 172 für Smilax; HEHNER, Ebenda, *116*, 296 (1917) für Asparagus. — 2) E. HAENSEL, Biochem. Ztschr., *16*, 9 (1909). — 3) J. VENTRE, Annuaire école nat.agr. Montpellier, *10*, 1 (1910). — 4) M. SOAVE, Annuar. Accad. Agr. Torino, *48* (1905.

		Trockensubstanz	Asche	Fe_2O_3 in der Trockensubstanz	Asche
Pflanzen erste Ernte	Stengel, Blätter .	12,428	1,62	0,092	5,67 %
	grüne Wurzel .	—	—	—	—
	schwarze Wurzel	10,509	1,309	0,208	15,89 %
zweite Ernte	Stengel, Blätter .	5,813	0,639	0,0448	7,01 %
	grüne Wurzel .	—	—	—	—
	schwarze Wurzel	6,585	0,726	0,192	26,44 %
dritte Ernte	Blätter	13,193	1,311	0,0816	6,22 %
	Stengel	12,65	1,710	0,196	11,46 %
	schwarze Wurzel	13,554	1,873	0,304	16,12 %
vierte Ernte	Blätter	12,796	1,216	0,064	5,246 %
	Stengel	8,3	1,190	0,112	9,41 %
	Wurzel	5,484	0,811	0,236	29,10 %

In Tomaten fanden BRAUTLECHT und CRAWFORD (1) einen Eisengehalt von 1,53—7,78% der Asche, resp. 0,012—0,037% der Frischsubstanz. Der Kupfergehalt derselben Frucht scheint normal. LIBERI und CUSMANO (2) bestimmten das Cu mit 0,14—2,1 mg pro Kilogramm Saft und Fruchtfleisch oder 3,88—19,45 g pro Kilogramm Trockenrückstand. In den Böden war bis zu 110,74 mg Cu pro Kilogramm trockener Erde enthalten.

Fluor fand LEPERRE 3) in Trauben in minimalen Spuren. Über das Vorkommen kleiner Mengen von Borsäure in verschiedenen Obstsorten hat HOTTER (4) Mitteilung gemacht.

Den Arsengehalt einer Reihe von Früchten gaben JADIN und ASTRUC (5) mit folgenden Zahlen: Tausendstel mg pro 100 g Trockensubstanz Material an.

Reis	7	Datteln . .	12	Orange . .	11
Nüsse . . .	25	Apfel . . .	5	Ananas . .	8
Mandeln . .	25	Birne . . .	7	Banane . .	6

Nach GOSIO (6) kann man nach Darreichung von arseniger Säure eine Anhäufung von As in Cucurbitafrüchten bis zu 0,0041% beobachten.

Nach Versuchen von VILLE (7) scheint Bespritzen junger Äpfel und Birnen mit 2%iger Eisenvitriollösung frühere Reife und bedeutendere Fruchtgröße hervorzurufen, also einen chemischen Wachstumsreiz zu bilden. Sehr zweifelhaft sind die Angaben von JENSCH (8), wonach reichliche Aufnahme von $CaCl_2$ bei Rubus Idaeus Ausbildung größerer Früchte hervorgerufen hätte.

Während der Fruchtreife nimmt der Gesamtaschengehalt ab, ähnlich wie es bei der Samenreifung geschieht. So fand OMEIS (9) bei Heidelbeeren

	am 9. Juni	25. Juni		7. Juli	12. Juli
	Beeren grün	Beginn der Rotfärbung	Rote Früchte	Übergang in Blau	Reife Beeren
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
Asche in der Trockensubstanz	0,52	0,94	0,52	0,51	0,38

Instruktiv sind die Untersuchungen von NEUBAUER (10) u. AMTHOR (11) an reifenden Traubenbeeren, in denen außer der Abnahme an Gesamt-

1)) BRAUTLECHT u. CRAWFORD, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 1001 (1914). — 2) LIBERI, CUSMANO, MARSIGLIA u. ZAY, Internat. agr.techn. Rdsch., *7*, 400 (1916). — 3) F LEPERRE, Bull. Soc. Chim. Belg., *23*, 82 (1909). — 4) E. HOTTER, Chem. Zentr. (1895), I, 393. — 5) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *154*, 893 (1912). — 6) B. GOSIO, Atti Acc. Linc. Rom. (5), *15*, I, 730. — 7) A. VILLE, Just (1888). I, 14. — 8) JENSCH, Ztsch. angew. Chem. (1894), p. 111. — 9) TH. OMEIS, Just (1889), I, 30. — 10) C. NEUBAUER, Ann. Önol., *4*, 490 (1876). — 11) C. AMTHOR, Ztsch. physiol. Chem., *6*, 227 (1882).

asche im prozentischen Verhältnisse der Trockensubstanz die Zunahme des prozentischen Phosphorsäuregehaltes in der Asche deutlich hervortritt. Nach Analysen von AMTHOR enthielten 100 g Most:

	am 10. August (beginnende Reife und Weichwerden der Beere)	22. August (fast völlige Reife)	4. September (gänzliche Reife)
Phosphorsäure	0,0740	0,0656	0,0520
Gesamtasche	0,7104	0,6240	0,5100
Verhältnis P_2O_5 : Asche	1:9,60	1:9,51	1:9,80

AMTHOR (1) lieferte weitere Angaben über die Verhältnisse der Aschenstoffe, während der Reifung von Kirschen und Johannisbeeren. Die Änderungen des Aschengehaltes in Prozenten der Trockensubstanz während des Reifens der Kirschen gehen aus der nachstehenden Tabelle hervor:

Asche in am	19. V.	23. V.	27. V.	31. V.	4. VI.	13. VI.	20. VI.	23. VI.	29. VI
Stielen.	5,57	4,96	5,89	5,68	6,70	6,45	6,14	6,36	6,43
Kirschen.	4,31	4,83	3,89	3,80	4,04	3,59	3,10	—	2,95
Kernen	6,13	6,12	6,87	7,44	6,80	5,17	3,94	3,67	3,41
Fleisch + Steinschale	4,43	4,33	3,82	3,63	3,86	3,47	2,96	—	2,9
Steinschale	—	—	—	—	—	—	0,18	0,21	0,17

In ähnlichem Gange nimmt der Prozentsatz der Asche in den Früchten an Phosphorsäure zu.

Für Johannisbeeren ergab sich in Prozenten der Trockensubstanz:

an am	3. VI.	11. VI.	23. VI.	13. VII.	7. VIII.
Asche . .	4,77	4,72	4,52	4,4	4,07
P_2O_5. . .	1,12	1,08	0,96	0,89	0,88
SO_3 . . .	0,15	0,198	0,24	0,17	0,18

Dabei nahm die Trockensubstanz bei Kirschen in folgendem Verhältnisse zu:

in am	19. V.	23. V.	27. V.	31. V.	4. VI.	13. VI.	20. VI.	23. VI.	29. VI.
Kirschen .	12,13	13,37	16,0	20,02	23,78	21,76	16,08	—	16,55
Kerne . .	8,13	7,81	8,0	8,96	13,38	20,09	42,83	49,25	60,45
Fleisch + Steinschale	13,61	15,16	18,39	21,6	24,03	22,54	15,52	—	15,19
Steinschale	—	—	—	—	—	—	—	86,33	87,42

Bei Johannisbeeren Trockensubstanzprozente:

3. VI.	11. VI.	23. VI.	13. VIII.	7. VIII.
13,31	13,2	13,0	13,18	15,43

Über die Reifung der Tomate vgl. Angaben von SETTIMJ (2).

1) AMTHOR, Ztsch. physiol. Chem., *7*, 197 (1883). — 2) SETTIMJ, Arch. Farm. sper., *24*, 345 (1917).

Siebenundfünfzigstes Kapitel: **Der Mineralstoffwechsel der Wurzeln.**

§ 1.

Allgemeines. Die in den Wurzelgeweben vorkommenden Aschenstoffe.

Von den ersten Jugendstadien an bis zur gänzlichen Einstellung der weiteren Entwicklung durchlaufen die Wurzeln der Phanerogamen eine Reihe von Lebensperioden, die sowohl scharf morphologisch charakterisiert sind, als auch gleichzeitig wichtige Funktionsänderungen bedeuten. An dem vollentwickelten Wurzelsystem lassen sich alle diese Epochen im Leben der Wurzel in den verschiedenen Teilen der Wurzeläste gleichzeitig beobachten. Die Wurzelspitze mit ihren embryonalen Geweben ist Sitz der Wahrnehmung für die verschiedenen Richtungsreize, welche Schwerkraft, Feuchtigkeit, auch etwa einseitig einfallendes Licht, mechanische Reizung auf die Wurzel ausüben. Mit Erreichung der nächstälteren Stadien, welche den Kulminationspunkt des Längenwachstums bedeuten und die vorderen 4—5 mm der Wurzeln einzunehmen pflegen, tritt die Wurzel aus dem Stadium des reizperzeptorischen Organs in das folgende Stadium, die Wachstumsperiode. Die Wurzelspitze hat überdies als wichtige Funktion die Ausbildung der Wurzelhaube, deren äußerste Zellen sich fortdauernd abschülfernd den Kanal, in welchem sich die Wurzel zwischen den Bodenpartikelchen fortschiebt, mit einer schlüpfrigen Auskleidung versehen und daher als Gleitmechanismus dienen. Die Wachstumszone ist bei den Wurzeln relativ stark vorgeschoben und auf eine sehr kurze Strecke zusammengedrängt, wodurch die Wirkung und Kraft beim Vordringen im Boden vorteilhaft zum Angriff kommt. In ihren zwei ersten Lebensstadien haben die Wurzelgewebe noch wenig mit der den Wurzeln obliegenden Ernährungsfunktion, der Resorption des Bodenwassers mit den darin gelösten Mineralstoffen, zu tun. Erst die dritte Periode, welche mit der Entwicklung der Wurzelhaare einsetzt, ist als „Resorptionsperiode“ charakterisiert. Durch die Ausbildung der zahlreichen Wurzelhaare, welche sich an die Bodenteilchen eng anschmiegend und diese umschließend, die Wurzel im Boden fest verankern und die nötige große Oberfläche zur ausgiebigen Resorptionstätigkeit schaffen, ist das Organ nun imstande, in erster Linie der Ernährungstätigkeit zu dienen. An den Wurzelästen nimmt diese Strecke mit ihrem dichten Haarkleide mehrere Zentimeter der Längenausdehnung der Wurzeln ein. Weiterhin sterben die Haare sukzessive ab, die Epidermiszellen werden durch eine schützende Korkschicht ersetzt, die Wurzel tritt in ein Stadium des Dickenwachstums ein und hört auf, als resorbierendes Organ tätig zu sein: sie dient fortan als Organ der Wasserleitung und vermittelt in dieser vierten und letzten Periode ihres Lebens die Leitung der aufgenommenen verdünnten Bodenlösung gegen den Stamm hin, und versorgt andererseits die jüngeren Wurzelteile durch die in den oberirdischen Teilen gebildeten nach abwärts zu leitenden Baustoffe. Selbstverständlich drückt sich in der Zusammensetzung der Asche jüngerer und älterer Wurzelpartien bis zu einem gewissen Grade die fortschreitende Umbildung der Gewebe aus. Die jüngsten Teile entsprechen in ihrem Reichtum an Kali und Phosphor-

säure dem Charakter protoplasmareicher Organe, während die älteren Teile höheren Aschengehalt aufweisen und den Kalkgehalt der Asche bedeutend ansteigen lassen. Spezifische Eigenheiten in der Menge und Zusammensetzung der Wurzelasche lassen sich weiter nicht feststellen.

Dies läßt sich ohne weiteres den vorliegenden Analysen jüngerer und älterer Wurzeln entnehmen. Methodisch ist zu bemerken, daß es unmöglich ist, Bodenwurzeln von den anhaftenden Erdpartikelchen so weit zu befreien, als daß nicht ein sehr erheblicher Teil der Asche aus Kieselsäure bestände. Wasserkulturen liefern hingegen das Material in beliebiger Reinheit.

	Asche	Kali	Natron	Kalk	MgO	Eisen	Phosphors.	SO_3	SiO_2	Cl
Avena sativa in Wasserkultur [Beyer, Landw. Vers.st., *11*, 262 (1869)]	6,21	22,85	10,67	15,15	7,20	3,12	11,84	7,61	9,15	·
Zea Mays in Wasserkultur (Wolff, Landw. Vers.st., *8*, 189)	10,14	35,0	·	13,0	1,8	5,2	23,5	10,1	1,9	13,1
Secale cereale, Wurzelsyst. (Wolff, Aschenanalysen, *1*, 16) . . . . 8. Mai	14,78	10,52	2,95	11,32	5,65	·	6,93	4,38	57,06	1,53
15. „	10,46	13,15	4,20	12,27	6,32	·	12,52	7,09	43,91	0,69
28. „	14,23	10,67	4,51	8,76	4,92	·	6,08	7,42	57,63	·
10. Juli	13,48	7,88	7,88	11,86	6,16	·	6,53	3,70	62,64	·
Hordeum vulgare, Wurzelsyst. [Fittbogen, Landw. Vers.st., *13*, 81 (1871)] 22. Mai	24,57	11,48	5,91	32,53	5,37	2,64	9,82	0,71	29,43	2,51
2. Juni	9,45	9,51	6,56	37,25	4,15	2,46	9,24	0,66	29,72	2,34
16. „	6,73	9,47	7,52	35,37	2,80	2,79	7,7	0,43	32,33	1,86
24. „	6,80	8,49	5,66	32,64	2,08	4,24	5,19	0,76	38,15	2,06
16. Juli	6,89	5,12	5,68	41,92	2,15	4,88	5,03	0,65	31,44	2,25
Fagopyrum, Wasserkultur [Nobbe, Landw. Vers.st., *13*, 321 (1871)] . . .	6,84	17,07	1,44	15,83	3,62	28,98	26,69	1,2	·	6,67
Pisum sativum [Weber, ib., *18*, 18 (1875)]	14,27	37,2	1,43	17,01	11,37	1,18	13,78	16,23	1,80	·
Trifolium pratense . . .	8,41	10,42	7,17	17,45	5,71	4,23	10,92	6,85	36,25	1,36
(Wolff, *1*, 67) 13. Mai	11,64	17,37	3,96	13,53	10,83	·	6,83	16,23	28,42	3,66
28. „	9,46	14,79	3,78	14,71	11,39	·	8,87	15,78	29,27	1,83
5. Juni	9,99	16,35	5,01	15,56	6,41	·	9,94	14,30	31.3	1,48
15. Juli	9,09	10,51	9,34	16,61	5,38	·	13,00	12,95	30,93	1,63
Primula farinosa (Wolff, *1*, 143)	8,37	2,51	21,1	25,86	4,79	1,24	3,87	2,69	30,16	3,57
Dianthus Caryophyllus .	5,64	23,33	1,16	45,26	4,43	3,83	11,22	2,59	5,34	0,36
Rosa centifolia	2,04	13,45	4,20	40,88	7,15	2,86	29,14	1,95	0,21	0,21
[Alte Wurzeln: Andreasch, Journ. prakt. Chem., *18* 204 (1879)]										

Hedera Helix, alte Wurzel, enthielt in einer von Block (1) ausgeführten Analyse 6,34% Asche. Hiervon war 8,413 K_2O, 0,413 Na_2O, 42,746 CaO, 2,445 MgO, 0,546 Fe_2O_3, 0,094 Mn_3O_4, 0,371 Al_2O_3, 0,575 HCl, 1,915 SO_3 und 3,458 P_2O_5. Im Preßsafte der Haarwurzeln von Beta überwiegen nach Andrlik (2) K, Na und Cl.

Aschenanalysen von Lupinuswurzelknöllchen (Wasserkultur) führte Troschke (3) aus. Er fand in den Knöllchen 7,51%, in den Wurzeln selbst

---

1) H. Block, Arch. Pharm., *246*, 953 (1888). — 2) K. Andrlik, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *29*, 403 (1905). — 3) Troschke, Just (1884), I, 60.

4,07%, der Trockensubstanz an Mineralstoffen. Im Vereine mit dem hohen Rohproteingehalt der Knöllchen (45,31% zu 7,06% in den Wurzeln) und Eiweißgehalt (31,59% in Knöllchen; 5,02% in Wurzeln) ist der hohe Gehalt an Phosphorsäure, der höhere Kaligehalt, der geringere Kalkgehalt in den Knöllchen von Wichtigkeit.

	Kali	Natron	Kalk	Magnesia	Eisen	Phosphorsäure	Schwefelsäure	Kieselsäure	Chlor	Mangan
Knöllchen	16,90	25,87	10,03	10,82	1,82	16,19	11,74	3,11	4,45	0,69
Wurzeln	12,80	24,11	11,23	11,61	0,34	8,84	24,27	3,28	3,48	0,68

Wieviel hiervon auf Rechnung der Bakterienleiber in den Knöllchen zu setzen ist, bleibt unbestimmt.

§ 2.

Die Resorption von Mineralstoffen durch die Wurzeln. Allgemeine Erfahrungen.

Es gehört unter die Reihe der unvergänglichen Verdienste von TH. DE SAUSSURE (1), volle Klarheit darin geschaffen zu haben, daß für die Ernährung der Landpflanzen keine andere Quelle der Mineralstoffzufuhr besteht, als der Vorrat, welcher im Boden geboten ist und welcher von den Wurzeln aufgenommen und zugeführt wird; daß aber auch alle in den Pflanzen vorhandenen unverbrennlichen Bestandteile aus dem Erdsubstrate stammen und man keine anderen Aschenstoffe in den Pflanzen findet, als diejenigen, welche dem Boden entnommen werden konnten. SAUSSURE war wohl der erste Forscher, welcher mit Nachdruck die Mineralstoffe als lebensnotwendige Bestandteile des Pflanzenkörpers bezeichnete. SAUSSURE erkannte schließlich, daß die Pflanze als lebender Organismus eine ihrem Bedürfnis entsprechende quantitative Auswahl unter den Aschenstoffen des Bodens trifft, und dieselben in einem anderen Verhältnis aufnimmt, als sie in der Bodenlösung enthalten sind.

Unserer historischen Einleitung ist zu entnehmen, wie langsam sich die Erkenntnis Bahn brach, daß keiner der in den Aschenstoffverbindungen in der Pflanze enthaltenen Grundstoffe durch die Lebenstätigkeit der Pflanzen entsteht. Durch die Schwierigkeit des Nachweises minimaler Mineralstoffquantitäten war es bedingt, daß immer wieder der schon VAN HELMONT unterlaufene Irrtum geschah, reines Wasser als geeignete Pflanzennahrung anzusehen. CARREE (2) wollte (1705) die Aufnahme der Nahrung der Pflanzen aus dem Boden durch Haarröhrchenwirkung erklären. 1746 meinte BONNET (3) aus seinen in Moos und Schwämmen gehaltenen Kulturen eine Ernährung durch Wasser annehmen zu dürfen, noch 1799 hielt CRELL (4) reines Wasser für ausreichend zur Pflanzenernährung, und selbst 1820 befaßte sich MAC NAB (5) mit der auffälligen Erscheinung, daß Ficus australis ohne Erde in freier Luft 8 Monate hindurch wuchs. Die Forschungen SAUSSURES hatten so wenig raschen Einfluß, daß 1818 ein hervorragender Forscher,

---

1) SAUSSURE, Über den Einfluß des Bodens auf die Bestandteile der Pflanzen: Gilberts Ann., *6*, 459 (1800). Chem. Untersuch. über die Vegetation, Ostwalds Klassiker, Nr. 16, p. 44 (1804). — 2) CARREE, Paris. Akademie, Phys. Abhandl., II. Teil. Breslau 1748, p. 501. — 3) BONNET, Mémoir. prés., *1*, 420 (1746). Crells Neueste chem. Arch., *1*, 66 (1798). — 4) CRELL, Crells Ann. (1799), I, 110. — 5) MAC NAB, Ann. Chim. et Phys. (2), *15*, 87 (1820).

wie DÖBEREINER (1), die Entstehung des Kali in der Pflanze als möglich ansieht, und später MOLLERAT (2) direkt von Kaliproduktion in den Kartoffelknollen spricht. Den definitiven Abschluß dieser unsicheren Vorstellungen, die SAUSSURE treffend mit dem Traum der Alchymisten, Gold zu erzeugen verglich, bedeuten erst die viel erwähnten klassischen Experimente von WIEGMANN und POLSTORFF (3), welche so glücklich waren, durch schlagende Argumente die Überzeugung von dem Ursprunge der Aschenstoffe aus dem Boden in den weitesten Kreisen für immer zu begründen, was SAUSSURE leider noch nicht gelungen war. WIEGMANN und POLSTORFF ließen 28 Lepidiumsamen in zerschnittenem feinen Platindraht keimen, hielten die Kultur mit destilliertem Wasser feucht und sorgten für reines O- und N-Gemisch mit CO_2-Zusatz als Atmosphäre. Die Pflänzchen starben nach 26tägigem Wachstum ab und enthielten 0,0025 g Asche: genau soviel wie 28 reife gute Lepidiumsamen. Weniger genaue Resultate lieferten Versuche mit Sand, der ausgeglüht und mit Königswasser gewaschen worden war; doch konnte hier leicht gezeigt werden, daß Begießen mit Mineralsalzlösungen die Pflenzen in diesem Substrate zu freudigem Gedeihen brachte, während Begießen mit destilliertem Wasser nur sehr kümmerliches Wachstum unterhalten konnte. Damit war der seit Anfang des 19. Jahrhunderts im Verein mit der unzureichenden Beurteilung der Bedeutung der Kohlensäureassimilation so verbreiteten Ansicht von der Aufnahme organischer Stoffe aus Boden und Dünger durch die Wurzeln, der „Humustheorie", das endgültige Urteil gesprochen, und gezeigt, daß der gesamte Kohlenstoffbedarf der grünen Pflanzen im Sinne der SAUSSUREschen Anschauungen aus der Kohlensäure der Luft gedeckt werden muß. Nicht allein durch die von SENEBIER und HASSENFRATZ geteilte Ansicht, daß die Kohlensäurezufuhr zu den assimilierenden Blättern durch die Gefäßbahnen aus den Wurzeln und aus dem Boden erfolgt, sondern auch durch die Unkenntnis von der Notwendigkeit der Mineralstoffe für das Leben der Pflanze, war die Meinung, daß die organischen Stoffe des Bodens als Hauptquelle der Pflanzennahrung anzusehen seien, so lange gestützt worden. CHAPTAL (4) sagte noch 1823: „que les sels sont pour les plantes ce que les épiceries et le sel marin sont pour l'estomac de l'homme", obwohl schon 20 Jahre zuvor SAUSSURE gezeigt hatte, daß es sich in den Aschenstoffen um unentbehrliche Nahrungsbestandteile, und nicht um entbehrliche Reizmittel, „Gewürze", handelt. MOLESCHOTT (5) äußert sich in seinem bekannten Werke: „Nur in den seltensten Fällen können die Organismen ohne alle anorganischen Stoffe bestehen. So fand MULDER gar keine Asche in der Essigmutter und wenigstens keine wägbare im Hornstoff der Samen von Iris und Alstroemeria." Aber auch die Kenntnisse von dem die Aschenstoffe resorbierenden Organ, den Wurzeln, klärten sich nur langsam. Auf S. SIMON, den Verfasser des 1768 anonym erschienenen Buches: „Des Jacinthes", leitet sich die später so vielfach geäußerte Ansicht zurück, daß die Wurzeln in erster Linie Absonderungsorgane für die Pflanze darstellen, eine Ansicht, welche später BRUGMANS, MOLDENHAWER, sodann 1832 MACAIRE-PRINSEP weiter ausgeführt haben (6), und die teilweise noch TREVIRANUS (7) vertrat. Als

1) DÖBEREINER, Schweigg. Journ., *23*, 79 (1818). — 2) J. B. MOLLERAT, Ann. Chim. et Phys. (2), *28*, 165 (1825); BRACONNOT, Ann. de Chim., *61*, 187 (1807). Noch 1837 zeigte PELLETIER [Berzelius Jahresber., *18*, 247 (1839)], wie wenig manche Forscher von der richtigen Ansicht durchdrungen waren. — 3) A. F. WIEGMANN u. L. POLSTORFF, Über die anorganischen Bestandteile der Pflanzen. Braunschweig 1842. — 4) CHAPTAL, Chim. appliquée à l'agricult., *1*, 91 (1823). — 5) J. MOLESCHOTT, Physiol. des Stoffwechsels (1851), p. 158. — 6) Vgl. Lit. bei CZAPEK, Jahrb. wiss. Bot., *29*, 324. — 7) TREVIRANUS, Physiol. der Gewächse (1835), I, 378.

„Sekret" wurden meist die in Abstoßung begriffenen, gequollenen Teile der Wurzelhaube angesehen. Obwohl bereits MALPIGHI (1) die Wurzelhaare verschiedener Pflanzen genauer beobachtet hatte, und ihre physiologische Bedeutung sicher in wesentlichen Zügen erfaßt hatte, wurden noch im 19. Jahrhundert sehr verfehlte Theorien über die Funktionen der Wurzeln aufgestellt. DE CANDOLLE (2) meinte, der resorbierende Teil der Wurzeln sei nur die äußerste Spitze, welche besondere hygroskopische Kraft besitze („Wurzelschwämmchen"). Richtige Angaben und Vorstellungen finden wir aber schon bei MEYEN (3), wo die Wurzelhaare in ihrer Bedeutung als resorbierende Organe voll gewürdigt werden, und die physiologischen Verhältnisse der Aschenstoffe im Geiste der von SAUSSURE begründeten Anschauungen verständnisvoll dargelegt werden. OHLERT (4) hat die Theorie DE CANDOLLEs durch einfache Versuche wiederlegt, indem er zeigte, daß das Eintauchen der Spitzen allein nicht genügt, um hinreichende Wasseraufnahme bei Wurzeln zu ermöglichen, und daß Entfernen der Wurzelspitzen die Funktionstüchtigkeit der Organe nicht aufhebt.

Dafür, daß die Wurzelhaare die Hauptrolle bei der Mineralstoffresorption spielen, sprechen so viele Tatsachen, daß sie meist als die bei der Wurzelfunktion ausschließlich in Betracht kommenden Organe hingestellt werden.

Der innige Kontakt mit den Bodenpartikeln, wodurch die Wurzelhaare in die Lage kommen, mit der kapillar festgehaltenen Bodenflüssigkeit allenthalben in osmotischen Stoffaustausch zu treten, die diesen Austausch unterstützende schleimige Beschaffenheit der äußeren Schichten der Zellmembran, die große Oberfläche des Wurzelhaarkleides, die Tatsache, daß auf polierten Marmorplatten zahlreiche Wurzelhaarabdrücke durch die lösende Wirkung der produzierten CO_2 auftreten, die Dauerhaftigkeit der Verbindung der Haaroberfläche mit den Bodenteilchen, ferner die Erfahrung, daß die Wurzelhaare in der Regel schwächer entwickelt sind, wenn die Wurzeln in wässeriger Nährlösung gezogen werden und so imstande sind, ohne Zuhilfenahme großer Kontaktflächen schnell und ausgiebig ihre resorbierende Tätigkeit zu entfalten: alles dies sind Gründe genug, um in den Wurzelhaaren wirklich die Hauptstätte der Mineralstoffresorption im Boden zu sehen. Allerdings ist die Möglichkeit gegeben, daß auch die noch haarlosen, weiter vorn gelegenen Partien unter günstigen Verhältnissen sich an der Ernährungstätigkeit der Wurzeln mitbeteiligen, wie KNY (5) durch besondere Versuche für die Nitrataufnahme gezeigt hat. Ausführliche Untersuchungen zur physiologischen Anatomie der Wurzelhaare hat FR. SCHWARZ (6) angestellt. Nach SNOW (7) drückt höhere Temperatur die Wurzelhaarbildung herab, und in destilliertem Wasser werden weniger Haare gebildet als im Leitungswasser. Bei vermindertem Sauerstoffzutritt werden keine Wurzelhaare gebildet, worauf auch die bei Wasserkultur oft zu beobachtende Hemmung der Haarbildung beruhen mag. Lichtzutritt verlängert die haartragende Zone. Nach RIGG (8) scheint Humussäure enthaltendes Sumpfwasser die Wurzel-

---

1) M. MALPIGHI, De radicibus plantarum (Opera omn., Tom. II). — 2) DE CANDOLLE, Organographie, *1*, 261; Physiologie (RÖPERS Übersetzung), *1*, 51 (1833). — 3) MEYEN, Neues System der Pflanz.physiol., *2*, 11 (1838). — 4) OHLERT, Linnaea (1837), p. 609. — 5) L. KNY, Ber. bot. Ges., *16*, 216 (1898); COUPIN, Compt. rend., *169*, 242 (1919). — 6) FR. SCHWARZ, Untersuch. bot. Inst. Tübingen, *1*, 135 (1883). Verhalten der Wurzelhaare gegen Lösungen: G. STIELER, Dissert. Kiel 1903. — 7) M. L. SNOW, Bot. Gaz., *40*, 12 (1905). — 8) G. B. RIGG, Ebenda, *55*, 314 (1913).

haarbildung von Tradescantia zu hemmen; in drainiertem Sumpfwasser wuchsen die Haare normal. Nach HANSTEEN u. COUPIN (1) wird die Wurzelhaarbildung der Kulturpflanzen durch Bodensalze merklich beeinflußt. Ihre Bildung wird durch zu hohe und zu niedrige Kalkgaben im Verhältnis zu Kali oder Magnesia beeinträchtigt. Succulenten haben nach HESSE (2) eine auffallend starke Haarentwicklung an den Wurzeln, auch Halophyten zeigen die Haarbildung bis zu einem gewissen Grade gesteigert. COUPIN (3) schilderte die Cytologie der Wurzelhaare; er fand den Kern oft weit entfernt von der wachsenden Spitze, meist noch in der generativen Zelle des Haares gelegen; Öltropfen als Einschlüsse wurden oft bei Pflanzen beobachtet, die sonst kein Fett enthalten. Die Zellmembran ist oft sehr dünn. Eindringen von Ca-Salzlösung läßt sich nach OSTERHOUT (4) an den Wurzelhaaren der Keimwurzeln von Dianthus barbatus ohne weiteres feststellen, indem sich Calciumoxalat in den Haarzellen ausscheidet; ebenso werden nachweislich Na, K, Mg und Fe aufgenommen. Interessante Regulationen der Absorptionstätigkeit der Wurzeln im Licht und Dunkeln beobachtete PANTANELLI (5). Als die beblätterten Stengel allein belichtet wurden, war die Wasseraufnahme der Wurzeln gefördert, die Salzaufnahme relativ vermindert. Waren die Wurzeln allein belichtet, so nahmen sie wieder relativ mehr Wasser auf als Salze. Im Dunkeln wurden absolut weniger aber relativ mehr Salze aufgenommen als Wasser. Total belichtete Kulturen nahmen relativ mehr Wasser auf, total verdunkelte relativ mehr Salze. Die Frage, bis zu welcher Grenze die Wurzeln dem Boden Wasser entziehen können, wurde von MÜNTZ (6) berührt. Trockener Boden absorbiert unter Wärmeentwicklung eine bestimmte Menge Wasser, z. B. 2 %, sehr fest. Nur das oberhalb dieser Grenze vorhandene Wasser kann ihm durch die Wurzeln entzogen werden; wasserärmerer Boden entzieht umgekehrt den Wurzeln Wasser. Daß bei der Aufnahme der Salze das Konzentrationsgefälle bedeutend durch den Verbrauch und Umsatz in der Zelle beeinflußt werden muß, bedarf hier keiner Ausführung (7).

Die Oberflächenvergrößerung, welche die Wurzel durch die Haarbildung erlangt, mag man nach roher Schätzung ebenso hoch veranschlagen wie die Wurzeloberfläche ohne Haare, so daß letztere durch die Haarausbildung etwa verdoppelt wird (8). Man kann nach GIRARD (9) durch Bestreuen der Wurzeln mit Schwefelblumen und Wägen der letzteren die Oberfläche der Wurzeln annähernd ermitteln; 1 g Schwefelblumen entspricht (mit 10 % Fehler) 200 qcm Oberfläche. Die Totallänge des Wurzelsystems eines Pflanzenindividuums ist in älteren Angaben außerordentlich überschätzt worden. Nach HARVEY-GIBSON (10) betrug bei einer blühenden Pflanze von Cucumis sativus, wo CLARK von 80 000 Fuß Wurzellänge sprach, die Totallänge des Wurzelsystems nur

1) B. HANSTEEN, Nyt. Mag. Naturvid., *47*, 181 (1909); COUPIN, Compt. rend., *164*, 641 (1917). — 2) H. HESSE, Dissert. Jena 1904. Über die bei trockengehaltenen Bryophyllum-Wurzeln auftretenden Drüsenhaare vgl. HABERLANDT, Sitz.ber. Berlin. Ak., 1915, XII, 25. Febr. — 3) H. COUPIN, Rev. gen. Bot., *21*, 63 (1909). — 4) W. J. V. OSTERHOUT, Ztsch. physik. Chem., *70*, 408 (1910). — 5) E. PANTANELLI, Landw. Jahrb., *34*, 665 (1905). — 6) A. MÜNTZ, Compt. rend., *150*, 1390 (1910). Über die Bodensalze usw. vgl. O. REITMAIR, Verh. Nat. Ges. (1913), II, *1*, 443; A. D. HALL, BRENCHLEY u. UNDERWOOD, Phil. Trans. Roy. Soc., B, *204*, 179 (1913); GOLA, Annali di Botan., *3*, 455 (1906); *8*, 1 (1910). — 7) P. MAZÉ, Compt. rend., *159*, 271 (1914). — 8) F. CZAPEK, Landw. Vers.stat., *52*, 473 (1899). — 9) A. GIRARD, Compt. rend., *102*, 1257 (1886). — 10) R. J. HARVEY-GIBSON, Ann. of Bot., *26*, 519 (1912).

280 Fuß. Wenn im allgemeinen Wurzeln von größerem Durchmesser bei der Flüssigkeitsaufnahme aus dem Boden besser arbeiten, so wird man zu bedenken haben, daß hier neben der Wasseraufnahme die regulierende wasserspeichernde Wirkung des Wurzelrindenparenchyms als begünstigender Faktor mitspielt, wie man aus den Beobachtungen an den zahlreichen Epiphyten mit dimorphen Wurzeln (Haft- resp. Nestwurzeln und Nährwurzeln), und den Wurzeln von Sumpfpflanzen schließen darf (**1**).

Durch die zentrifugal fortschreitende Ausbreitung des Wurzelsystems in seiner ganzen Peripheriefläche, welche ungefähr der Mantelfläche eines schlanken Kegels entspricht, erschließen sich der Wurzeltätigkeit fortdauernd neue, noch nicht ausgebeutete Bodenpartien. Die energischste Wirkung pflegt gerade in den peripheren Teilen des Wurzelsystems, welche die größte Zahl feiner Zweigsysteme besitzen: „Wurzelfilz" bei Topfpflanzen [SACHS (**2**)] entfaltet zu werden. Wachstum und Form des Wurzelsystems paßt sich übrigens in vielen Fällen sehr ausgeprägt den Bedingungen an, unter welchen sich die Pflanzen entwickeln, und so sehen wir mannigfache interessante Abänderungen bei Einsaat in verschiedene Bodentiefen usw. in der Form des Wurzelsystems eintreten, welche auf Einhaltung der stärksten Ausbreitung in bestimmte Tiefenregionen ausgehen. Hierüber haben C. KRAUS, TIETSCHERT, KOSSOWITSCH, MASSART und andere Forscher (**3**) eine Reihe bemerkenswerte Erfahrungen gesammelt. Die Tiefenausdehnung des Wurzelsystems der Kulturpflanzen beträgt stets das Mehrfache der Höhe der oberirdischen Teile. Es geht bei Sommerhalmfrüchten auf die 3—4fache, bei Winterhalmfrüchten nach abgeschlossener Entwicklung auf die 7—8fache Halmlänge [SCHULZE (**4**)]. Auch kleinere Pflanzen gewinnen bis 3,5 m Bewurzelungstiefe (**5**). Felsen- und Wüstenpflanzen sind oft gezwungen mit ihren Wurzeln tief in Gesteins- und Bodenspalten vorzudringen, um sich in Besitz genügender Wasserzufuhr zu setzen. Die Angabe von VOLKENS (**6**), wonach Wüstenpflanzen ihre Wurzeln häufig durch die trockenen Bodenschichten in große Tiefen bis zum Grundwasser entsenden, läßt sich nach FITTING (**7**) nicht aufrecht halten, sondern auch hier müssen die obersten trockenen Bodenschichten als Feuchtigkeitsquelle dienen. Mehrfach ist festgestellt worden (**8**), wie Form und Wachstum der Wurzeln durch die dargebotene Nährsalzkonzentration beeinflußt wird und man mag in der auffälligen Verlängerung der Wurzeln beim Wachsen in destilliertem Wasser, in N-freien, überhaupt in unvollständigen

---

1) Über Epiphytenwurzeln u. a.: F. CZAPEK, Sitz.ber. Wien. Ak., *118* (1909); O PORSCH, Denkschr. Wien. Ak., 1911; Anzeiger, *10*, 179 (1911); Wurzeldurchmesser auch E. VASALLO, Gazz. chim. ital., *41*, I, 342 (1911). — **2**) J. SACHS, Flora (1892), p. 171. — **3**) C. KRAUS, Forsch. Agr. Physik, *55*, 234 (1892); TIETSCHERT, Keimungsversuch mit Secale (1872); KOSSOWITSCH, Forsch. Agr. Physik, *17*, 104 (1894); MASSART, Bull. jard. Bot. Bruxell., *1*, fasc. 4 (1903). M. MOLLIARD, Bull. Soc. Bot. (4), *9*, 42 (1909). PFEFFER, Pflanzenphysiol., *1*, 139 (1897). Wurzelbilder verschiedener Kulturpflanzen: B. SCHULZE, Wurzelatlas. Berlin 1914. — **4**) B. SCHULZE, Naturwiss., 1915, p. 394. — **5**) MODESTOV (1915), ref. Bot. Zentr., *135*, 339. Vgl. ferner WÄCHTER, Mitteil. kgl. Landesanst. Wasserhyg., *21*, 206 (1916); WOROBIEW (1916), ref. Bot. Zentr., *138*, 53; KROEMER, Landw. Jahrb., *51*, 673 (1918). — **6**) G. VOLKENS, Sitz.ber. Akad. Berlin, 28. Jan. 1886. — **7**) H. FITTING, Ztsch. f. Bot., *3*, 209 (1911). — **8**) A. E. KRASSNOW, Just (1888), I, 14; PETHYBRIDGE, Ebenda (1900), II, 252; R. GEMECK, Bot. Zentr., *92*, 248 (1903); DASSONVILLE, Rev. gén. Bot., *8*, 284 (1896). Über die starke Streckung von Wurzeln in N-freier Nährlösung: MÜLLER-THURGAU, Zentr. Agr.chem., *29*, 101 (1900). Wurzeltätigkeit submerser Pflanzen: R. H. POND, U. S. Fish Commiss. Rep. for 1903, p. 483 (1905).

Nährlösungen eine zweckmäßige Einrichtung erblicken, welche die Wurzeln dazu befähigt, nährstoffarme Bodenstrecken rascher zu überwinden.

Den mit Mykorrhiza ausgerüsteten Wurzeln geht das Haarkleid ab, und augenscheinlich übernimmt bei mykotrophen Gewächsen die aus Pilzfäden bestehende Hülle die Funktion der Wurzelhaare. STAHL (1) verdanken wir wichtige Studien über die Beziehungen der Mykorrhizen zur Versorgung mit Aschenstoffen. SCHREINER u. REED (2) haben die Wechselwirkungen zwischen Neutralsalzen und der oxydasischen Wirkungen von Wurzelhaarzellen geprüft; doch ist hier nicht zu ersehen, wie etwa Fermentwirkung und Fermentproduktion beeinflußt wird. Meist handelt es sich um ein Plus an Oxydationswirkung bei Anwesenheit von Elektrolyten.

Wie schon SAUSSURE in seinen grundlegenden Experimentaluntersuchungen ausführte, finden sich die aus dem Boden in die Wurzeln übertretenden Mineralstoffe in der Pflanze in einem anderen Mengenverhältnis als in der Bodenflüssigkeit. Dieses „quantitative Wahlvermögen" wurde in den Betrachtungen von SCHULZ-FLEETH (3) in seinem Wesen richtig als Tätigkeit des lebenden Organismus aufgefaßt. Auch TRINCHINETTI (4) erläuterte dieses Verhältnis durch neue Versuche. Die einschlägigen Tatsachenkomplexe werden wirksam durch die vielfältige Erfahrung vor Augen geführt, daß verschiedene auf demselben Boden erwachsene Pflanzenarten Asche von ungleicher Beschaffenheit liefern und manche im Boden nur in minimalen Spuren vorhandene Mineralstoffe in viel erheblicherer Menge enthalten. Daß die Wurzeln in ihrer aktiven Tätigkeit bei der Stoffaufnahme von den oberirdischen Teilen wesentlich unabhängig sind, beweist die Fortdauer der Mineralstoffaufnahme nach Abschneiden des Stammes an seinem Grunde. Wie HANSEN (5) gezeigt hat, läßt sich die Wirkung lebender Wurzeln in der Weise ausschalten, daß Pflanzen mit abgebrühtem Wurzelsystem fortfahren mineralische Nährlösung aufzunehmen. Möglicherweise würde die Fortführung dieser Versuche und die Ausdehnung derselben auf Chloroformnarkose, Giftwirkungen usw. nähere Kenntnisse von der Tätigkeit des Wurzelsystems vermitteln und etwaige Einflußnahme der oberirdischen Teile auf die Art der Mineralstoffversorgung von der direkten Wurzeltätigkeit trennen lassen. Daß bei der Mineralstoffaufnahme in die lebenden Wurzeln Endosmose und Umwandlung der eingedrungenen Stoffe als treibende Faktoren gemeinsam tätig sind, hat schon MULDER (6) klar erkannt. Die Einsicht wird dadurch erheblich erschwert, daß die lebende Plasmahaut als osmotische Membran die Aufnahme der Stoffe durch Löslichkeitsunterschiede regelt. Auf dem Gebiete dieser Fragen ist in neuerer Zeit die Auffassung vorherrschend, daß die Plasmahaut ein System von festen und flüssigen Kolloiden von bestimmten elektrochemischen Qualitäten und von bestimmtem Elektrolytgehalt darstellt, welches für das Durchlassen der Bodensalze entscheidend wirken muß (7). Adsorptive

---

1) E. STAHL, Jahrb. wiss. Bot., *34*, 539 (1900). — 2) O. SCHREINER u. H. S. REED, U. S. Dept. Agric. Bur. of Soils, Bull. Nr. 56. Washington 1909. — 3) C. SCHULZ-FLEETH, Der rationelle Ackerbau (1836), p. 124. Pogg. Ann., *88*, 17 (1853). — 4) A. TRICHINETTI, Sulla facoltà della radice (1843); Bot. Ztg. (1845), p. 111. Auch E. DEMOUSSY, Compt. rend., *127*, 970 (1899). — 5) A. HANSEN, Arb. bot. Inst. Würzburg, *3*, 305 (1885). — 6) MULDER, Physiol. Chem. (1844), p. 678, Anm. — 7) Über Salzaufnahme besonders FITTING, Jahrb. wiss. Bot., *56*, 1 (1915); PANTANELLI, Ebenda, p. 689; ferner LESAGE, Compt. rend., *164*, 119 (1917); MAQUENNE u. DEMOUSSY, Ebenda, p. 979; STILES u. KIDD, Proc. Roy. Soc., B, *90*, 487 (1919); GIRARD, Compt. rend., *168*, 1335 (1919). Siehe auch Bd. I, p. 56 u. 178ff.

Verdrängungen spielen in erster Reihe mit. Dabei ist es wesentlich, daß die im lebenden Plasma an die Kolloide gebundenen Ionen in jenen relativen Konzentrationen vorhanden sind, in welchem sie in Seewasser vorkommen, und man kann dieses Mischungsverhältnis im weitesten Sinne als „physiologisch“ ansehen. Osterhout hat betont, daß Schädigungen des Plasmas um so leichter durch Ionengemische von außen erfolgen können, je konzentrierter die äußere Lösung ist. Deswegen ist es in sehr verdünnten Salzlösungen, wie sie im Boden geboten sind, nicht nötig, eine „physiologische Balanzierung“ mit den Plasmasalzen einzuhalten, während es in konzentrierteren Lösungen sehr wichtig ist, daß nicht nur die bestimmten Mineralnährstoffe, sondern auch bestimmte Ionenmischungen dargereicht werden.

Für die Ernährung der Pflanzen kommen vor allem die Kationen $K^{\cdot}$, $Na^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, $H^{\cdot}$, $Fe^{\cdot\cdot}$ und $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, die Anionen Cl', NO_3', SO_4'' und HPO_4'' in Betracht. Wenigstens legt man derzeit auf die Gegenwart anderer Ionen für die Pflanzenernährung kein Gewicht, eine Ansicht, welche möglicherweise manchen Abänderungen unterzogen werden wird. Nach Feststellung der Notwendigkeit von Mineralstoffen zur Ernährung überhaupt, wie sie durch die Versuche von Wiegmann u. Polstorff endgültig erreicht war, stand man vor der Aufgabe, zu entscheiden, welche von den im Boden vorkommenden Mineralstoffe zu den unbedingt zum Leben wichtigen Nahrungsstoffen gerechnet werden müssen. Einschlägige Arbeiten erschienen bald nach Wiegmann-Polstorffs Untersuchungen, und es nehmen darunter die Versuche des Fürsten zu Salm-Horstmar (1) eine hervorragende Stelle ein. Bei diesen Experimenten war die Wahl eines geeigneten Nährbodens von größter Bedeutung. Salm-Horstmar wählte als Substrat Zuckerkohle oder ausgeglühten Quarzsand, Es lag nur in der schlecht kontrollierbaren Beschaffenheit dieser Nährsubstrate, wenn teilweise unzutreffende Resultate, wie Unentbehrlichkeit von SiO_2, Al_2O_3, Mangan und Entbehrlichkeit von Magnesia, verzeichnet wurden. Deshalb war es ein außerordentlicher methodischer Erfolg, als es gelang, zu beweisen, daß Pflanzen in wässerigen Mineralsalzlösungen von geeigneter Zusammensetzung völlig normal gedeihen, so daß man an Stelle der Sandkultur die hier weit vorteilhaftere „Wasserkulturmethode“ setzen konnte.

Liebig kommt das Verdienst zu, die Anregung zur Ausbildung solcher Methoden gegeben zu haben. Die mühevolle Ausarbeitung geeigneter Verfahren, sowie der Beweis, daß erfolgreiche Wasserkultur möglich ist, war das Werk von J. Sachs, Knop, Stohmann, Nobbe (2) und späterer Forscher.

---

1) Fürst zu Salm Horstmar, Versuche und Resultate über die Nahrung der Pflanzen. Braunschweig 1856; Journ. prakt. Chem., *46*, 193 (1849); Ann. Chim. et Phys. (3), *32*, 461 (1851). — 2) J. Sachs, Sitz.ber. Wien. Ak., *26*, 331 (1858); Landw. Vers.stat., *2*, 22, 224 (1860). Liebig, Die Chemie in ihrer Anwendung usw., 7. Aufl., *2*, 395 (1862); Knop, Landw. Vers.stat., *2*, 65 (1860); *3*, 295 (1861); Stohmann, Lieb. Ann., *121*, 314 (1862); Nobbe, Wolff, Jahresber. Agr. Chem. (1861); Knop u. Dworzak, Verhandl. sächs. Ges. Leipzig (1875), p. 29. Petersen, Fühlings landw. Ztg. (1876), p. 336. A. Brasch u. Rabe, Biedermanns Zentr. (1876), p. 122. Sorauer, Just (1877), p. 677 für Obstbäume; Nobbe, Hänlein u. Councler, Tharandter forstl. Jahrb. (1880), p. 1. Tollens, Journ. f. Landw. (1882), p. 537. Hellriegel, Beitr. z. d. naturw. Grundlag. d. Ackerbaues (1883). Untersuch. üb. d. Stickstoffnahrung (1888). Knop, Landw. Vers.stat., *30*, 292 (1884). Troschke, Just (1884), I, 60 für Lupine; E. Heiden, Zentr. Agr.chem. (1844), p. 622. Wortmann, Bot. Ztg. (1892) p. 643. R. Otto, Ber. bot. Ges., *17*, 139 (1899) für Kohlrabi.

Seit langer Zeit ist es dadurch möglich, wenigstens von einer größeren Anzahl von Pflanzenarten (darunter sind Zea Mays, Phaseolus, Fagopyrum besonders leicht zu ziehen), vollkommen normale üppige Exemplare in Wasserkultur zu erhalten, welche ebensoviel keimfähige Samen hervorbringen wie kräftige Pflanzen im Erdboden. Nach LAUBERT (**1**) ist besonders Tradescantia viridis ein günstiges Objekt für Wasserkulturversuche. Ohne näher auf die Einzelheiten der Technik einzugehen, sei erwähnt, daß es wichtig ist, möglichst geräumige Glasbehälter als Kulturgefäße zu wählen, dieselben dunkel und kühl zu halten und für die Sauerstoffversorgung der Flüssigkeit durch öfteres Durchblasen eines Luftstromes Sorge zu tragen. Schätzenswerte Winke gab im Hinblick auf diese Dinge WORTMANN, l. c. 1892. Für eine passende Befestigung der Pflanzen wurden verschiedene brauchbare Vorschläge gemacht (**2**). Als „Normallösung" wird seit 50 Jahren die von KNOP ermittelte Mischung verwendet. Von einer Mischung aus 4 Gewichtsteilen $Ca(NO_3)_2$ und je 1 Gewichtsteil von KNO_3, KH_2PO_4, $MgSO_4$ werden 2—3 g auf 1 l Wasser gelöst und hierzu 1 Tropfen $FeCl_3$ oder ein Körnchen $FeSO_4$ hinzugefügt. Will man eine vollständige konzentrierte Lösung aufbewahren und dieselbe nach Bedarf verdünnen, so hält man sich nach KNOP (1884) vorrätig: eine Lösung von 205 g $MgSO_4$ in 3,5 l Wasser; eine Lösung von 400 g $Ca(NO_3)_2$, 100 g KNO_3 und 100 g KH_2PO_4 in 3,5 l Wasser. Je 100 ccm dieser beiden Lösungen auf 10 l Wasser geben eine 2‰ige allgemein verwendbare Nährlösung, der nur noch eine Spur Eisensalz zuzusetzen ist. In unserem Institut werden von den vier erwähnten Salzen 10%ige Lösungen getrennt aufgehoben. Zum Gebrauche werden in einem Meßzylinder 40 ccm $Ca(NO_3)_2$, und je 10 ccm der drei anderen Lösungen gemischt und dieses Quantum auf 3½ l Wasser verdünnt. Soviel Flüssigkeit dient in der Regel für ein Wasserkulturgefäß. Die Grenzen des Konzentrationsoptimums sind nicht eng. TOTTINGHAM (**3**) fand für Triticum 0,6% als beste Konzentration. Schon früher beobachtete OTTO für Kohlrabipflanzen die Bevorzugung höherer Konzentrationen. Halophyten vertrugen in STANGES Versuchen (**4**) noch einen Zusatz von 3% NaCl ohne Schaden zu nehmen. Sehr schädlich ist Eintritt alkalischer Reaktion im Nährmedium. Nötigenfalls wird man die nötige Azidität durch Zusatz von etwas HNO_3 oder H_3PO_4 wieder herstellen. Als Modifikationen der KNOPschen Lösung wäre zu nennen:

Die PFEFFERsche Nährlösung: Aq. dest. 1000; $Ca(NO_3)_2$ + Aq. 1,3; KNO_3 0,33; KH_2PO_4 0,33; $MgSO_4$ + Aq. 0,33; KCl 0,16. Eisen: auf 7 l oder auf 3 l 3—6 Tropfen der offizinellen $FeCl_3$-Lösung.

Die SACHSsche Nährlösung: Aq. dest. 1000; KNO_3 1; $CaSO_4$ + Aq. 0,5; $MgSO_4$ + Aq. 0,5; $Ca_3(PO_4)_2$ 0,5; „Spuren Eisen".

Die AD. MAYERsche Nährlösung: Aq. dest. 1000; $Ca(NO_3)_2$ + Aq. 1; KNO_3 0,25; KH_2PO_4 0,25; $MgSO_4$ + Aq. 0,25; $Fe_3(PO_4)_2$ + Aq. 0,2.

---

1) R. LAUBERT, Monatsh. nat.wiss. Unt., *1*, 241 (1908). — **2**) Paraffinierte Drahtnetze: B. E. LIVINGSTON, Plant World, *9*, 13 (1905); Porzellanschrot: F. PILZ, Wiener landw. Ztg., *61*, 277 (1911); Paraffinblöcke: C. HOFFMANN, Zentr. Bakt., II, *34*, 430 (1912). Bot. Gaz., *55*, 244 (1913). — **3**) W. E. TOTTINGHAM, Physiol. Research. Baltimore, *1*, Nr. 4, p. 133 (1914). W. STILES, Ann. of Bot., *29*, 89 (1915); *30*, 427 (1916). SHIVE, Plant World, *17*, 345 (1914). BRENCHLEY, Ann. of Bot., *30*, 77 (1916). GURLITT, Beihefte bot. Zentr., *35*, I, 279 (1918). Wirkung starker Düngersalzgaben: WARNEBOLD, Landw. Jahrb., *49*, 215 (1916). J. SIMON, Ber. Flora, Dresden 1910, p. 118. BEAL u. MUNCIE, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 2784 (1916). — **4**) STANGE, Bot. Ztg. (1892), p. 253.

Die Münchener Nährlösung (**1**): Pro 1 l frisch destilliertes Wasser je 0,25 g KCl, $MgSO_4$, Calciumphosphat, $FeSO_4$, $CaSO_4$ und $NH_4 \cdot NO_3$.

Hierzu kommt noch die von VON DER CRONE (**2**) angegebene Mischung welche lösliche Phosphate absichtlich vermeidet: Auf 1 l Wasser kommen 1 g KNO_3, 0,5 g $CaSO_4$ + Aq, 0,5 g $MgSO_4$ + Aq. und 0,5 g einer Mischung 1:1 von $Fe_3(PO_4)_2$ und $Ca_3(PO_4)_2$. Die mancherseits gerühmten besonderen Vorzüge dieser Mischung fand jedoch BENECKE (**3**) nicht bestätigt. Neben der Wasserkulturmethode hat sich aber zur Erprobung von Düngemitteln und zu anderen Zwecken auch die Topfkulturmethode technisch weit ausbilden lassen (**4**). Zu besonderen Zwecken hat man Methoden zur sicher bakterienfreien Anzucht von Phanerogamen ausgearbeitet (**5**), sowie „Luftkulturen", in denen sich das Wurzelsystem in feuchter Luft entwickelt und nur zeitweise mit Mineralnährlösung bespritzt wird (**6**).

Schon den älteren Experimentatoren diente zuerst die Sandkultur, sodann die Wasserkultur zur Entscheidung, welche von den im Boden häufig vorkommenden und regelmäßig durch die Pflanzenwurzeln zur Aufnahme gelangenden Mineralstoffen unbedingt geboten werden müssen, damit ein normales Leben der Pflanzen möglich ist. KNOP, LUCANUS, WOLFF, NOBBE (**7**) ermittelten an Wasserkulturen, welche Stoffe als unentbehrlich anzusehen sind, und welche Mineralsubstanzen ohne Schaden fortgelassen werden können; nur wenige nicht wesentliche Punkte waren nicht so leicht aufzuhellen. Auch die Wirkung der im Boden in kleinsten Mengen und nicht überall gebotenen Verbindungen seltener Grundstoffe wurde durch die genannten Forscher zum größten Teil sichergestellt. Die Ermittlung der zum Leben unentbehrlichen Verbindungen geschah in der Regel auf dem Wege der Differenzmethode, d. h. es wurden Verbindungen eines bestimmten Grundstoffes möglichst aus der Nährlösung ausgeschaltet, während sonst die Verhältnisse der Nährlösung der vollständigen Nährlösung möglichst gleichgestellt wurden. So gelang es leicht zu zeigen, daß Salze von Kalium, Magnesium, Kalk, Eisen, Phosphorsäure und Schwefelsäure nicht fehlen dürfen, wenn nicht die Pflanzen früher oder später eingehen sollen. Dies sind heute die Fundamente unseres Wissens. Eine weitere Frage war es, inwieweit die Grundstoffe fähig sind, einander zu ersetzen. Noch MOHL (**8**) hatte ziemlich unsichere und unrichtige Vorstellungen über diese Verhältnisse geäußert. Erst die Wasserkulturmethode zeigte, daß von einer ausgedehnten Substitution der als lebenswichtig erkannten Grundstoffe durch ihre nächsten Verwandten nicht die Rede sein kann, wie im folgenden Paragraphen eingehender dargelegt wird. Der Bedarf der Pflanze an den einzelnen Mineralstoffen stimmt, wie die schönen Untersuchungen von HERBST (**9**) gezeigt haben, weitgehend mit dem Bedarf an Aschensubstanzen bei Tieren

---

1) HILTNER, Prakt. Blätt. f. Pfl.bau u. Pfl.schutz, 1914, Heft 5. Landw. Jahrb. f. Bayern 1913, Nr. 10. — **2**) G. VON DER CRONE, Dissert. Bonn 1904. — **3**) W. BENECKE, Ztsch. f. Bot., *1*, 235 (1909). Auch M. TH. ARNOLD, PRIANISCHNIKOFF, VIII. Bericht Laborator. Vers. 1911—1912. Moskau 1913, p. 27. Zu gunsten dieser Nährlösung äußert sich M. APPEL, Ztsch. Bot., *10*, 145 (1918). — **4**) Vgl. O. LOEW, Chem.-Ztg. (1911), Nr. 87, p. 801. Über einen geeigneten künstlichen Boden vgl. A. GAUTIER, Compt. rend., *164*, 985 (1917). — **5**) z. B. IW. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *31*, 97 (1913). MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *33*, 139 (1919). — **6**) V. ARCICHOVSKIJ, Russ. Journ. Exp. Landw. (1911), Nr. 1. — **7**) LUCANUS, Landw. Vers.stat., *8*, 146 (1866). WOLFF, Ebenda (1868), p. 349. Daselbst auch zahlreiche Arbeiten von KNOP u. NOBBE. — **8**) H. MOHL, Vegetabil. Zelle (1851), p. 77. — **9**) C. HERBST, Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe. Leipzig 1901. Arch. f. Entwickl.mechan., *17*, 306 (1903). Tier. Ernährung: FORBES, Journ. Washington Ac, Sci., *6*, 431 (1916).

überein; es sind daher bei allen Organismen ziemlich dieselben Grundstoffe als lebenswichtig anzusehen, und Substitution ist allenthalben nur in sehr beschränktem Maße möglich.

In bezug auf die Erforschung der allgemeinen Bedeutung der Mineralbestandteile für das Leben der Zelle haben aber auch die Wasserkulturversuche nur sehr wenige Fortschritte gebracht. War einer der Aschenstoffe als unentbehrlich erkannt worden, so schloß sich naturgemäß die Frage an diese Feststellung an: welche Funktionen den einzelnen Grundstoffen im Organismus zukommen. In den seltensten Fällen ist es gelungen, durch diese Fragestellung um einen Schritt weiterzukommen. Es ist heute noch unverständlich, in welchem Zusammenhange die Chlorose mit der Eisenentziehung steht, welche Rolle K, Mg usw. im Organismus spielen. Die bereits ausführlich geschilderten Tatsachen der Verbreitung und Anhäufung der einzelnen Mineralstoffe sagen uns nur, daß Kali, Magnesia und Phosphorsäureverbindungen in jungen, protoplasma- und eiweißreichen Teilen vorherrschen, während Kalk, Kieselsäure mit zunehmendem Alter in den Vordergrund treten. Allein wenn wir versuchen, wie es etwa DE VRIES (**1**) tat, uns genauere Vorstellungen über die damit verbundenen Vorgänge zu bilden, so gelangen wir immer nur zu lückenhaften und unsicheren Resultaten, welche kaum Anhaltspunkte für experimentelle Prüfung darbieten. Die Unfruchtbarkeit, welche diese Bemühungen zeigen, liegt schon in dem Umstande begründet, daß von allen gleichzeitig anwesenden Mineralstoffen abgesehen wurde, unbekümmert um die Möglichkeit, daß bei Weglassung eines Bestandteiles nicht unter allen Umständen dieselben Folgen eintreten müssen. Maßgebend für die Situation des lebenden Organismus ist immer nur die Gesamtheit der gebotenen Stoffe, deren Konstellation und Wirkung sich natürlich sehr ändern muß, wenn irgendein Nahrungsbestandteil wegbleibt. Von diesem Gesichtspunkte aus ist auch das von LIEBIG aufgestellte „Gesetz des Minimums“ zu beurteilen, welches besagt, daß der Ernteertrag stets von jenem Bestandteile der Nahrung abhängt, welcher in geringster Menge vorhanden ist. Im Wesen der Sache deckt sich diese Erfahrung mit der von BLACKMAN (**2**) mit Klarheit entwickelten Vorstellung, daß in allen Fällen wo ein Lebensvorgang mehreren Einflüssen gleichzeitig wirksam unterworfen ist, der Fortgang des Prozesses beherrscht wird von dem Grade des schwächsten Faktors, der deshalb „limiting factor“ genannt wurde. So wird trotz günstiger Gestaltung der anderweitigen Ernährungsbedingungen die Pflanze bei beschränkter PO_4-Zufuhr eben nur jene Entwicklung erreichen können, welche der dargebotenen PO_4-Konzentration entspricht. Doch hat BLACKMAN diese Verhältnisse nicht exakt mathematisch formuliert. Nach MITSCHERLICH (**3**) würden bei Konstanthaltung der übrigen Bedingungen die durch verschiedene PO_4-Düngung bei Avena erzielbaren Ernteerträge sich unter dem Bilde einer logarithmischen Funktion darstellen lassen („Gesetz der physiologischen Beziehungen“). Als Maß des Düngungseffektes können wir die Relation zwischen Düngungsertrag (y) und Düngerstoffmenge (x):

---

1) H. DE VRIES, Jahrb. wiss. Bot., *14*, Heft 4 (1884). EGOROW, Journ. Opitn. Agronom., *16*, 270, Petersburg. — **2**) F. F. BLACKMAN, Annals of Botany, *19*, 281 (1905). — **3**) E. A. MITSCHERLICH, Landw. Vers.stat., *75*, 231 (1911); Landw. Jahrb., *38*, 537 (1909); *42*, 701 (1912); *49*, 335 (1916); Landw. Vers.stat., *78*, 127 (1912); Die Naturwissenschaften, *8*, 85 (1920); BAULE, Landw. Jahrb., *51*, 363 (1918).

$\frac{y}{x}$ ansehen, d. h. genau genommen den Differentialquotienten $\frac{dy}{dx}$. Dieser ist nach MITSCHERLICH proportional zu dem vom überhaupt erzielbaren Höchstertrag A noch fehlenden Anteil $A-y$, also: $\frac{dy}{dx} = k\ (A-y)$ oder $\frac{dy}{A-y} = k \cdot dx$. Daraus erhält man durch die einfache Integration $ln\ (A-y) = C - k \cdot x$ oder nach Eliminierung der Integrationskonstante: $ln\ \frac{A}{A-y} = kx$ resp. $k = \frac{1}{x} \cdot ln\ \frac{A}{A-y}$, womit sich MITSCHERLICHS Gesetz prüfen läßt. Diese Deduktion hat jedoch zur Voraussetzung, daß der Ertrag (Trockensubstanzproduktion) sich stets unter Verwendung des gleichen Aufwandes an PO_4 vermehrt und die produzierte Pflanzensubstanz durchschnittlich denselben P-Gehalt hat, was ja für den großen Gang der Vegetation im ganzen nicht unrichtig ist, so daß eine praktische Annäherung durch die Formulierung von MITSCHERLICH wohl gegeben wird. Hingegen ziehen es PFEIFFER und FRÖHLICH vor, die Ertragskurve aus einem parabolischen und einem geradlinigen Anteil zusammengesetzt zu betrachten, der Gleichung $y = a + bx + cx^2 + \ldots$ entsprechend (1).

Führten schon LIEBIGS Überlegungen zu dem Resultate, daß unter allen Umständen das Mischungsverhältnis der dargebotenen Mineralstoffe (Ionen) über die Stabilität des Ernährungszustandes entscheidet, so kam dies an der Hand neuerer Erfahrungen zu noch weit schärferem Ausdrucke. Es ist das Verdienst von O. LOEW, darauf hingewiesen zu haben, daß die Relation Ca:Mg im Substrat ein gewisses Maß nach beiden Seiten nicht überschreiten darf, ohne daß schädliche Folgen für die Pflanzen eintreten (Lehre vom „Kalkfaktor"). Doch wirkten für die Physiologie in der Folge besonders die Arbeiten von J. LOEB auf zoologischem, und jene von OSTERHOUT auf botanischem Gebiete dadurch klärend, daß sie frühzeitig den Anschluß an die physikalisch-chemischen Tatsachen suchten und fanden. Als LOEB (2) Ringelkrebse aus der Gattung Gammarus in einer dem Seewasser isosmotischen NaCl-Lösung hielt, starben darin die Tiere ebenso ab wie in destilliertem Wasser. Die Giftigkeit der NaCl-Lösung war aber sofort aufgehoben, wenn man KCl und $CaCl_2$ in jenem Verhältnis zugefügt hatte, wie es der Zusammensetzung des Seewassers entspricht. Andererseits wirkt eine aus allen Seewassersalzen nur mit Weglassung des NaCl hergestellte Lösung gleichfalls schädlich. Mit LOEB drückt man die Erfahrung dadurch aus, daß man von „physiologischem Gleichgewichte" der Lösungsbestandteile spricht. Das physiologische Salzgleichgewicht ist um so wichtiger, je konzentrierter das Medium zu sein hat, und es ist dadurch erklärlich, daß diese Verhältnisse bei den Meeresorganismen zuerst aufgedeckt werden konnten. Im allgemeinen ist die schädliche Wirkung reiner Salzlösungen und nicht äquilibrierter Salzgemische auf das Prinzip der Ionen-

---

1) TH. PFEIFFER, Landw. Vers.stat., *78*, 131 (1912). H. RODEWALD, Ebenda, p. 247. Ferner A. MAYER, Landw. Vers.stat., *78*, 115 (1912). J. POUGET u. D. CHOUCHAK, Compt. rend., *155*, 303 (1912). L. MAZÉ, Ebenda, *154*, 1711 (1912). A. MAYER, Landw. Vers.stat., *83*, 397 (1914). — 2) J. LOEB, Pflüg. Arch., *97*, 394 (1903); *107*, 252 (1905). L. J. HENDERSON u. K. SPIRO, Biochem. Ztsch., *15*, 105, 114 (1908); J. LOEB, Ebenda, *36*, 275 (1911); Science, *34*, 653 (1911); OSTERHOUT, Univ. of Californ. Publ., *2*, 317 (1907); Science, *35*, 112; *36*, 571 (1912).

verdrängung aus adsorptiven Kolloidbindungen zurückzuführen. LOEB (1) hat mit Recht hinsichtlich der Ursachen der Giftigkeit reiner NaCl-Lösungen und der Entgiftung derselben durch K und Ca an die Umsetzung von Ioneneiweißverbindungen (PAULI) gedacht; dabei ist der Gehalt an OH-Ionen von Einfluß und die Giftwirkung nimmt mit dem OH'-Gehalt zu. Übrigens wird die relative Giftigkeit von Na und Ca auch durch die anwesenden Anionen nicht unbeeinflußt gelassen (2). Viele Erscheinungen des Ionen-Antagonismus sind bisher nur an tierischen Objekten besser gekannt, so die Wechselwirkungen zwischen KCl und NaCl [LOEB (3)], wobei es beachtenswert ist, daß durch Na nur eine unvollständige Entgiftung von K zu erreichen ist. Für pflanzliche Objekte hob OSTERHOUT (4) im Gegenteil den weitgehenden Parallelismus der Na- und K-Wirkungen hervor. MASCHHAUPT (5) konnte bei Mais einen Antagonismus zwischen Na und K und zwischen Na und Mg nicht sicher feststellen. Für die Entgiftung von Kalisalzen durch Salze des Ca und anderer Erdalkalimetalle fand LOEB (6) den Entgiftungskoeffizienten meist größer als 30 und 500mal größer als die Entgiftungsrelation K/Na. Magnesium- und K-Salze, die für sich giftig sind, wirken nach OSTERHOUT (7) in Mischung nur schwach oder gar nicht schädigend. In Versuchen von SCHREINER und SKINNER (8), wo gleichzeitig die Wirkung von Phosphat, Nitrat und Kali untersucht wurde, ergab sich als Optimum eine Mischung von 10—30 % Phosphat, 30—60 % Nitrat und 30—60 % Kali. Ionenantagonismen sind hier nicht ausgeschlossen, doch wurde die H'-Ionenkonzentration nicht näher beachtet und das ganze Versuchsbild ist nicht genügend klar.

Auch OSTERHOUT (9) faßt die Natur des Salzantagonismus als eine gegenseitige Hinderung der Ionen beim Durchtritt durch das Protoplasma auf. Man kann nach diesem Forscher (10) die Verhältnisse sehr übersichtlich durch „Antagonismuskurven" ausdrücken, in den die Ordinaten der Endpunkte die in den reinen Salzlösungen erhaltenen Wachstumseffekte darstellen, zwischen welchen die Wirkungen der verschieden zusammengesetzten Salzmischungen liegen. Bei OSTERHOUT findet man weiter ausgeführt, wie Salze ohne nennenswerten Nährwert, wie NaCl, einer Pflanze dadurch von erheblichem Nutzen sein können, daß sie im Überschuß befindliche Bodensalze, wie Ca oder Mg, physiologisch äquilibrieren und so schädliche Effekte verhindern. Bemerkenswert ist es, daß, sowie das Blut in seiner Ionenmischung wesentlich dem Seewasser mit seinen Salzen entspricht, auch das pflanzliche Protoplasma ein kolloides System darstellt, welches eine ähnliche Salzmischung enthält. Man kann dies daraus entnehmen, daß auch für Süßwasseralgen, Zellen höherer Pflanzen, Chloroplasten, ausgetretene Plasmaballen von Vaucheria,

1) J. LOEB, Biochem. Ztsch., *2*, 81 (1906). Proc. Nat. Acad. Sci., I, 473 (1915). — 2) LOEB, Biochem. Ztsch. *39*, 194 (1912). — Eine Übersicht über die relative Giftigkeit der Anionen und Kationen bei R. HÖBER, Ztsch. physik. Chem., *70*, II, 134 (1909). — 3) LOEB, Biochem. Ztsch., *31*, 450 (1911). LOEB u. H. WASTENEYS, Ebenda, *33*, 480 (1911). — 4) W. J. V. OSTERHOUT, Botan. Gaz., *48*, 98 (1909). — 5) MASCHHAUPT, Versl. Landbouwkund. Onderzoek. Rijks stat., Nr. XIX (1916). Ferner LIPMAN u. GERICKE, Journ. Agr. Res., *4*, 201 (1915) für Anionen. MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *52*, 279 (1918). — 6) LOEB, Biochem. Ztsch., *32*, 308 (1911). — 7) OSTERHOUT, Bot. Gaz., *45*, 117 (1908); *47*, 48 (1909). O. LOEW u. K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 395 (1907). — 8) O. SCHREINER u. J. SKINNER, Bot. Gaz., *50*, 1 (1910). — 9) OSTERHOUT, Science *34*, 187 (1911); *35*, 112 (1912) — 10) OSTERHOUT, Jahrb. wiss. Bot., *46*, 121 (1908); *54*, 645 (1914). — Vgl. auch K. MIYAKE, Bot. Mag. Tokyo, *27*, 173 (1913). M. MAC COOL, Cornell Univ. Ex. Sta. Mem., Nr. 2, p. 211 (1914).

die dem Seewasser entsprechende VAN'T HOFFsche Mischung in gehöriger Verdünnung das beste Konservierungsmittel darstellt, in dem sich lebende Objekte so lange Zeit unverändert erhalten, als sich die gestörte Ernährung nicht geltend macht.

Wenn in der ersten Auflage (II, 842) auf die Bedeutung der Untersuchungen von FR. HOFMEISTER und SPIRO über salzhaltige Kolloide für die Mineralstoffresorption durch Zellen hingewiesen wurde, so hat sich die Festhaltung dieser Gesichtspunkte durchaus bewährt. In erster Reihe darf das physiologische Salzgleichgewicht in der Zelle nicht gestört werden, wenn die Bodenbestandteile zur Aufnahme gelangen, und daraus gehen die ersten Wechselwirkungen hervor. Manche älteren Anschauungen über Ionenaustausch, wie jene von MEURER (1), hatten auf diesen Standpunkt noch nicht Rücksicht genommen und zeigen deswegen wichtige Momente, wie Adsorption in den Zellwänden, Wasserstoffionenkonzentration, nicht genügend berücksichtigt. Bei RUFZ DE LAVISON (2) begegnen wir einseitige Betonung eines Einflusses der Wurzelendodermis auf die Mineralstoffaufnahme resp. des Plasmas der Durchlaßzellen, und für eine nähere physikalische Definierung der Tätigkeit dieser Zellen bei der Ionenpenetration ist nicht Sorge getragen. Mehr Beachtung verdienen die Ausführungen von HANSTEEN-CRANNER (3), wo auf die adsorptive Rolle der Zellwände und das Vorkommen von Fettsäuren in denselben hingewiesen wird, was auf das Gesamtbild der Wurzeltätigkeit nicht ohne Einfluß sein kann, wie noch weitere Untersuchungen näher zu bestimmen haben werden. Damit hängen manche Speicherungsvorgänge und sonstige Ionenwirkungen zusammen (4).

Durch Ionenumsatz sind wohl auch die Angaben über elektive Ionenaufnahme bei Wurzeln zu erklären. Ausführlichere Daten haben PANTANELLI und SELLA (5) hierüber geliefert. Aus binären Elektrolyten soll im ersten Stadium vorwiegend das Anion absorbiert werden, so daß das Kation, besonders Ca, zurückbleibt. Die genannten Autoren gaben für diese Beobachtungen folgende Zahlen in mg-Ionen:

	KCl	$CaCl_2$	K_2SO_4	$CaSO_4$	KH_2PO_4	$CaHPO_4$
Kation	23,38	0	11,6	0	1,15	1,1
Anion	30,68	51,39	18,07	1,98	49,04	78,93

für die aufgenommenen Ionenanteile. Daß es sich um Trennung der entgegengesetzt geladenen Ionen handelt, in dem Sinne wie OSTWALD (6) dieselbe durch halbdurchlässige Scheidewände theoretisch konstruierte, ist nicht wahrscheinlich. Ebenso dürfte Vermehrung der H-Ionenkonzentration kaum in erheblichem Maße stattfinden können durch derartige Trennungsprozesse (7). Daß abgeschnittene Stengel im Gegensatze

1) R. MEURER, Jahrb. wiss. Bot., *46*, 503 (1909). Hierzu W. RUHLAND, Mitteil. kais. biol. Anstalt Land- u. Forstwirtsch. (1910), p. 6. — POUGET u. CHOUCHAK, Compt. rend., *154*, 1709 (1912) beachten überhaupt nur Verbrauch und Konzentration als regulierende Faktoren. — 2) DE RUFZ DE LAVISON, Rev. gén. Bot., *22*, 225 (1910); *23*, 177 (1911); Ann. Sci. Nat. (9), *14*, 97 (1911). — 3) B. HANSTEEN-CRANNER, Jahrb. wiss. Bot., *53*, 536 (1914). Nyt. Mag. Naturvid., *50*, 129 (1912). 4) Vgl. F. PLATE, Acc. Linc. Rom. (5), *23*, I, 839 (1914). Auch M. MOLLIARD, Bull. Soc. Bot. (4), *11*, 74 (1911). — 5) E. PANTANELLI u. M. SELLA, Acc. Linc. Rom. (5), *18*, II, 481 (1909). — 6) OSTWALD, Ztsch. physik. Chem., *6*, Heft 1 (1890). — 7) Vgl. C. MONTANARI, Staz. Sper. Agr. Ital., *27*, 806 (1904). Basensäurengleichgewicht im Organismus: E. D'AGOSTINO, Arch. internat. Physiol., *11*, 38 (1911). Einfluß der Reaktion des Düngers: K. ASO u. R. BAHADUR, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 39 (1906).

zu den Wurzeln Aschenstoffe „wahllos aufnehmen“, wie J. de Rufz de Lavison (1) angibt, ist aus verschiedenen Gründen nicht zu erwarten. Inwieweit die von Chouchak (2) beobachtete Wirkung von Gleichströmen auf die Absorption von Nährstoffen durch Wurzeln (Elektroendosmose?) mit Vorgängen in der lebenden Zelle zusammenstößt, bleibt noch zu untersuchen.

Einer näheren Feststellung wäre noch der Einfluß von kolloiden Stoffen in der Wurzelumgebung, sowohl kolloider Lösungen als fester Kolloide, auf die Aschenstoffresorption wert (3). Kolloidgelöste Mineralstoffe scheinen eine geringe Rolle als Nahrungsbestandteile zu spielen und nur bei Fe, Al, SiO_2 ernstlich in Frage zu kommen. Im allgemeinen passieren diese Stoffe die Plasmahaut schwer. Mit den Bodenkolloiden tritt oft ein Wettbewerb um adsorbierte Mineralstoffe ein, dessen nähere Modalitäten noch wenig bekannt sind.

Die bedeutende Quantität von Mineralstoffen, welche die Pflanzendecke durch die Tätigkeit der Wurzeln dem Boden entzieht, zeigen folgende Daten nach den Angaben von Stöckhardt und Schröder (4). Eine Durchschnittsernte bzw. ein Waldbestand entnimmt dem Boden jährlich pro Hektar in Kilogrammen:

	Wintergetreide	Sommergetreide	Leguminose	Klee	Kartoffel	Buche	Fichte	Kiefer
Kali	39,2	49,0	58,8	117,5	105,8	15,12	8,13	6,32
Kalk	13,7	17,6	58,8	117,5	35,3	98,10	69,05	24,19
Magnesia . .	8,8	9,8	15,7	41,1	19,6	16,55	8,56	5,82
Phosphorsäure	23,5	19,6	27,4	35,3	33,3	13,54	7,77	4,48
Schwefelsäure .	4,9	5,9	9,8	11,8	15,7	3,86	2,67	1,85
Kieselsäure .	105,8	86,2	9,8	19,6	7,8	63,01	53,93	6,91

Selbstverständlich steht auch der Wasserbedarf der Pflanzen zu ihrer Mineralstoffversorgung in bestimmten Beziehungen. Ist die Salzkonzentration im Boden eine größere, so muß der Wasserbedarf steigen, oder die Pflanzenproduktion wird geringer, wenn die Wasserversorgung über ein bestimmtes Maß nicht hinausgehen kann. Nach Charabot und Hébert (5) wirken die Salze des Bodens mit ungleicher Intensität und Nitrate sollen den stärksten Effekt äußern. Mit dem Wasserverbrauche ist die Pflanze, wie Seelhorst (6) für Avena konstatierte, um so ökonomischer und nützt das gegebene Wasserquantum um so besser aus, je günstiger die Mischung der dargebotenen Bodennährsalze ist. Schließlich bedarf die Tatsache einer Auseinandersetzung, daß die Pflanzen in verschiedenem Lebensalter ihre Aschenstoffresorption aus dem Boden in verschiedenem Maße ausüben.

Zweifellos wird Bedeutung und Bedarf bei den einzelnen Mineralnährstoffen in den einzelnen Lebensstadien nicht gleich sein (7). Überdies

1) J. de Rufz de Lavison, Compt. rend., *151*, 675. — 2) Chouchak, Ebenda, *158*, 1907 (1914). — 3) Absorption von Kolloiden durch Wurzeln: Mazé, Ebenda, *152*, 783; Bodenkolloidwirkungen: E. Coppenrath, Hasenbäumer u. König, Landw. Vers.stat., *46*, 401 (1907); E. Ramann, Koll.chem. Beihefte, *2*, 285 (1911). Wirkung von festen Adsorbentien in Wasserkulturen: J. F. Breazeale, Botan. Gaz., *41*, 54 (1906). Basenretention im Boden: A. D. Hall u. N. H. J. Miller, Proc. Roy. Soc., B, *77*, 1 (1905). SiO_2 u. Al_2O_3-Aufnahme: A. Gregoire, Ann. Stat. Agron. Gembloux 1912. — 4) J. Schröder, Tharandter forstl. Jahrb., *27*, 25 (1877). — 5) Charabot u. Hébert, Compt. rend., *136*, 160 (1903). — 6) C. v. Seelhorst, Journ. f. Landw., *47*, 369 (1902). — 7) Vgl. L. Montemartini, Bull. Soc. Bot. Ital. (1909), p. 162.

kommt im Jugendstadium noch die Konkurrenz mit den aus den Reservestoffbehältern stammenden Mineralstoffen hinzu; ANDRÉ (1) fand auch, daß in jungen Wurzeln eine Anhäufung von K und PO_4 zutage tritt, die aus den Reservestoffen des Samens stammt.

Für Gerste, Weizen, Erbse, Senf untersuchten WILFARTH, RÖMER und WIMMER (2) die Aschenstoffaufnahme in den einzelnen Vegetationsstadien. Das Maximum derselben wurde zur Zeit der Blüte und des beginnenden Fruchtansatzes gefunden. Bei der Kartoffel trat das Maximum in der letzten Ernte hervor. Die reifende Pflanze gibt wieder Aschenstoffe an den Boden ab, jedoch keine Phosphorsäure. Avena wurde von SEIDLER und STUTZER (3) in vier Stadien untersucht. Auch hier ergab sich das Maximum in der dritten Vegetationsperiode. Na, Ca, PO_4 wurden in einzelnen Fällen nur in geringen Mengen an den Boden wieder zurückgegeben. Die Nährstoffaufnahme der Zuckerrübe im ersten Wachstumsjahr erfordert nach STROHMER (4) gleichfalls viel K und PO_4. Bei Allium Cepa konkurrieren die Zwiebeln nach ANDRÉ (5) in der ersten Periode nicht mit der Mineralstoffaufnahme der Luftorgane; PO_4 wandert vielmehr in die Luftorgane aus. Später erfolgt Wachsen des Mineralstoffgehaltes sowohl in der Zwiebel als in den Luftorganen. In der Zwiebel setzt sich diese Zunahme bis zur Blütezeit fort, worauf die Anhäufung in den Samen beginnt. An Daucus Carota verfolgte DELEANO (6) die einschlägigen Verhältnisse in gründlichen Untersuchungen. Hier äußern sich die Beziehungen zwischen Aschenstoffgehalt der Wurzel und jenem der Luftorgane nur schwach. Im ersten Jahre erfolgt kontinuierliche Vermehrung der Mineralstoffe, dann Konstanz, die in der Wurzel auch später andauert, während die Luftorgane eine Abnahme zeigen. Graphisch wurde der Gang der Aschenstoffaufnahme durch MONNIER (7) sowie durch RABINOVITCH (8) aufzuzeichnen versucht. Nach dem letztgenannten Untersucher würde sich die Assimilation der Mineralstoffe bei Rhaphanus sativus in den verschiedenen Stadien durch eine logarithmische Kurve darstellen lassen. Die im Safte enthaltenen löslichen Stoffe erleiden nach ANDRÉ (9) bei Helianthus tuberosus, Phytolacca und Daucus während der Entwicklung eine Abnahme.

§ 3.

Die Resorption der einzelnen gelösten Mineralstoffe aus dem Boden.

I. Die Alkalimetallsalze. Schon im Beginne der nach der „Differenzmethode" mit Hilfe der Wasserkultur angestellten Experimentaluntersuchungen zeigten die Erfahrungen verschiedener Forscher wie LUCANUS, NOBBE, WOLFF (10) einheitlich, daß die Versuchspflanzen ohne Gegen-

1) G. ANDRÉ, Compt. rend., *148*, 515 (1909). — 2) H. WILFARTH, H. RÖMER u. G. WIMMER, Landw. Vers.stat., *63*, 1 (1906). Nährstoffaufnahme und morphologischer Bau der Pflanze: M. WAGNER, Ebenda, *69*, 161 (1908). — 3) L. SEIDLER u. A. STUTZER, Journ. Landw., *56*, 273 (1908). — 4) F. STROHMER, H. BRIEM u. O. FALLADA, Österr.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *36*, 207 (1907). — 5) G. ANDRÉ, Compt. rend., *150*, 713 (1910). Bull. Soc. Chim. (4), *7*, 927 (1910). — 6) N. T. DELEANO, Inst. Bot. Univ. Genève (7), *9* (1907), (8), 2. u. 3. Heft (1908). — 7) A. MONNIER, Publ. Univ. Genève (7), *3*; CHODAT u. MONNIER, Bull. Herb. Boissier, *5*, 615 (1905). — 8) D. M. RABINOVITCH, Publ. Inst. Bot. Genève (8), *11* (1914). — 9) G. ANDRÉ, Compt. rend., 18 févr. 1907. — 10) LUCANUS, Landw. Vers.stat., *8*, 146 (1866). WOLFF, Ebenda, *10*, 349 (1868). NOBBE, Ebenda, *13*, 399 (1871). LOEW, Ebenda, *21*, 389 (1878).

wart von Kali bald zugrundegingen und daß es ferner nicht möglich war, das Kalium in seinen physiologischen Leistungen durch Salze der nahe verwandten Leichtmetalle, besonders durch Na-Salze zu ersetzen. So trat bei Avena in Versuchen von WOLFF, in denen die Kaliumgabe durch steigende Mengen von Natron oder Kalk vertreten war, deutlich der Ernteausfall hervor. Immerhin wird bezüglich der Wirkung einer ausgiebigen Natronsalzmenge bei schwacher Kalidarreichung an der Hand neuerer Erfahrungen eine günstige Beeinflussung nicht mehr in Abrede gestellt werden können. So macht nach PFEIFFER (**1**) Natronzufuhr die assimilierte Kalimenge bei Getreide in gesteigertem Maße für die Bildung der Körner verfügbar, wie aus dem Mehrertrage geschlossen wurde. Auch BREAZEALE (**2**) sah bei Triticum, daß Mangel an Natron starken Kalibedarf zur Folge hat. SCHULZE (**3**) machte an Sinapis ähnliche Erfahrungen, und besonders an der Zuckerrübe tritt es nach mehrfachen Berichten (**4**) unverkennbar hervor, wie Natronzufuhr kräftigere Entwicklung der Pflanzen ermöglicht. Alle diese Ergebnisse machen es nicht wahrscheinlich, daß Natron das Kali bei seinen Funktionen im lebenden Protoplasma voll ersetzen kann, doch wird vielleicht oft ansehnlicher Aufwand an Kali durch Natronsalze erspart, indem die letzteren Nebenfunktionen und Schutzfunktionen versehen. Daß das Lithium ebensowenig wie das Natrium den Gleichgewichtszustand der Ernährung an Stelle des Kali aufrecht halten kann, erfuhren NOBBE sowie GAUNERSDORFER (**5**). Es können vielmehr bei Lithiumzusatz schon durch kleine Mengen toxische Wirkungen hervortreten. Übrigens ist dies nicht immer gleich; nach RAVENNA (**6**) ist wenigstens für Nicotiana und Kartoffel kaum eine markante Giftwirkung zu beobachten, mehr bei Avena und Phaseolus; ja vielleicht kann bei Nicotiana nach RAVENNA Lithium ähnlich wie Natron die Funktionen des Kaliums unterstützen.

Rubidium, welches möglicherweise ebenfalls partiell für Kali eintreten kann, erzeugt nach O. LOEW (**7**) empfindliche Störungen des Pflanzenwachstums, und noch schädlicher erwies sich Caesium. Für Reis fand MIYAKE (**8**) Natron schädlicher als Kali. Über schädliche Wirkungen durch ein Übermaß von Kali bei Wiesengräsern berichtete STUTZER (**9**). Hier handelt es sich aber stets um hohe Salzkonzentrationen, was auch hinsichtlich der Erfahrungen von PÉLIGOT (**10**) an Phaseolus gilt.

Durch eine große Summe von Erfahrungen, die sowohl auf dem Felde als im landwirtschaftlichen Laboratorium gesammelt wurden, ist die günstige Wirkung einer gesteigerten Zufuhr von Kalisalzen auf den Ernteertrag

---

1) TH. PFEIFFER, EINECKE u. HIEPER, Mitteil. landw. Inst. Breslau, *3*, 567 (1906). — **2**) J. E. BREAZEALE, Soc. Amer. Chem. Journ., *28*, 1013 (1906). Vgl. auch B. L. HARTWELL u. F. R. PEMBER, Rep. Rhode Is nd Agr. Ex. Sta. (1908), p. 243. — **3**) B. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *79/80*, 431 (1913). — **4**) J. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *30*, 397 (1906); KRÜGER, Ztsch. Vereins Dtsch. Zuck.Ind. (1914), p. 694. F. STROHMER, F. H. BRIEM u. O. FALLADA, Österr.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind. (1908), Heft 6. Bei steigendem Ersatz von K durch Na sinkt jedoch der Zuckergehalt der Rübe: K. ANDRLIK u. URBAN, Ztsch. Zuck.Ind. Böhm., *32*, 208 (1908). Über die gegenseitige Abhängigk. der Resorption von K u. Na bei Zuckerrübe: STOKLASA, Biochem. Ztsch., *73*, 260 (1916). — Ferner MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *51*, 473 (1918). — **5**) NOBBE, l. c. GAUNERSDORFER, Landw. Vers.stat., *34*, 175 (1887). — **6**) C. RAVENNA u. M. ZAMORANI, Acc. Linc. Rom. (5), *18*, II, 626 (1909); *21*, II, 292 (1912). Lithium im Tierorganismus: E. HERRMANN, Pflüg. Arch., *109*, 26 (1905); Wirkung von Li auf Muskelfasern: C. SP. MILLIKEN u. P. G. STILES, Amer. Journ. Physiol., *14*, 359 (1905). — **7**) O. LOEW, Landw. Vers.stat., *21*, 389 (1878). — **8**) K. MIYAKE, Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc., *5*, 91 (1914). — **9**) A. STUTZER, Landw. Vers.stat., *65*, 264 (1906). — **10**) E. PÉLIGOT, Ann. Chim. et Phys. (4), *30*, 218 (1873).

vieler Kulturpflanzen unter verschiedenen Vegetationsbedingungen außer Frage gestellt. An der Zuckerrübe beobachteten PAGNOUL, KOHLRAUSCH und STROHMER, EBERMANN u. a. (1) günstige Wirkung von Kalizufuhr, doch wurde nach umfassenden Zusammenstellungen von MAERCKER (2) nur in der kleineren Zahl der ausgeführten Versuche durch Kalisalze Ertragssteigerung an Zucker erzeugt, häufig hingegen eine Verminderung des Zuckerreichtums. Dankbar für Kalidüngung fand MAERCKER Avena, Hordeum, Zea, Linum, Pisum, Lupinus, Trifolium, Secale, Kartoffel, Futterrübe und Wiesengräser. WILFARTH und WIMMER (3) studierten die Wirkung der Kalidarreichung für Kartoffel, Tabak, Fagopyrum, Sinapis, Cichorium und Avena in Versuchen nach der Sandkulturmethode von HELLRIEGEL. ANDOYNAUD (4) fand günstige Wirkungen beim Weinstock. Über Kartoffel ist die Untersuchung von PFEIFFER (5), über Gerste jene von STOKLASA und PITRA (6) zu vergleichen. BLANCK (7) prüfte die Verhältnisse der Kalidarreichung näher bei Nicotiana, ASO (8) untersuchte den Wert verschiedener Kaliverbindungen bei Gerste und Reis; NAMIKAWA (9) fand den Knollenertrag auch bei Colocasia antiquorum durch Kalidüngung gesteigert.

Als Kalidünger kommen derzeit vor allem die Mineralien der Staßfurter Abraumsalze in Betracht: Kainit, Carnallit, Polyhalit u. a. Die chlorhaltigen Kalidünger wurden früher weniger verwendet, kommen aber jetzt mehr in Aufnahme. Versuche von LEMMERMANN (10) zeigten die Staßfurter Kalisalze anderen Kalidüngemitteln, wie feingemahlenem Phonolith, Leucit weit überlegen. Namentlich im Vereine mit Phosphatdüngung entfalten Kalisalze eine erhebliche Wirkung auf den Ernteertrag. Am frühesten wurden Erfolge auf Moorboden erzielt, für welchen Kalidüngung außerordentliche Bedeutung besitzt. Nach dem bahnbrechenden Vorgehen von SCHULZ-LUPITZ (11) wurde aber auch der Vorteil von Kalizufuhr auf leichtem Sandboden bei Lupinenkultur allgemein anerkannt. Auch auf die Versuche von BERTHELOT und ANDRÉ (12) mit Darreichung verschiedener Kalisalze an Amarantus caudatus sei verwiesen.

In Vegetationsversuchen mit verschiedenen kalihaltigen Mineralien fand PRIANISCHNIKOW (13) alle Mineralien der Feldspatgruppe als Kalidünger für Pflanzen sehr wenig geeignet. Nach BLANCK (14) ist Glimmer unter allen Verhältnissen besser geeignet als Feldspat, sowohl Biotit als Muscovit. Von Biotit erwies sich etwa $^1/_5$ des Kaligehaltes als ausnutzbar.

---

1) PAGNOUL, Compt. rend., *80*, 1010 (1875); O. KOHLRAUSCH u. STROHMER, Biedermanns Zentr. (1876), p. 59; E. EBERMANN, Ebenda (1877), p. 69. — 2) C. MAERCKER, Die Kalisalze und ihre Anwendung. Berlin 1880; 2. Bericht 1891. — 3) H. WILFARTH u. G. WIMMER, Arbeit. Dtsch. landw. Ges., *68*, 1 (1902). — 4) A. ANDOYNAUD, Biedermanns Zentr. (1878), p. 251. — 5) TH. PFEIFFER, Landw. Vers.stat., *54*, 379 (1900); SJOLLEMA, Journ. Landw., *47*, 305 (1899). — 6) J. STOKLASA u. PITRA, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr. (1901), p. 567. L. SCHÜL, Landw. Jahrb., *45*, 646 (1913). — 7) E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *64*, 243 (1906). Über Kalidüngung ferner: SEELHORST, Journ. Landw., *63*, 345 (1916); FAACK, Mitteil. landw. Lehrk. Hochschule f. Bodenkultur Wien, I, 443 (1913). — 8) K. ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 67 (1906). Für Gerste auch A. CSERHÁTI, Österr.Ung. Ztsch. Zuck.Ind. u. Landw., *35*, 676 (1907). — 9) S. NAMIKAWA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 73 (1906). — 10) LEMMERMANN, Internat. Agrartechn. Rdsch., *4*, Heft 10 (1913). SEELHORST u. VOIGT, Journ. f. Landw., *64*, 31 (1916). MITSCHERLICH, Landw. Jahrb. *53*, 501 (1919). — 11) SCHULZ-LUPITZ, Kalidüngung auf leichtem Boden. Berlin 1890, 4. Aufl. Moorboden: WERTH, Mitteil. Verein Förd. Moorkultur, *36*, 305 (1919). — 12) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *106*, 801, 902 (1888). — 13) D. PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *77*, 399 (1912). BRIGGS u. BREAZEALE, Journ. Agr. Res., *8*, 21 (1917). — 14) E. BLANCK, Journ. Landw., *60*, 97 (1912); *61*, 1 (1913).

Im Boden ist nach den Untersuchungen von BERTHELOT und ANDRÉ (1) und von SCHLOESING (2) sehr viel ungelöstes Kali, aber nur sehr wenig in der Bodenflüssigkeit gelöstes Kali enthalten. 3—4 Millionen Kilogramm Ackererde, die etwa der Erde von 1 ha Ackerland entsprechen, enthalten 3—4000 kg ungelöstes Kali und nur 1—5 kg gelöstes Kali. Das unlösliche Kali ist vielleicht hauptsächlich als anorganische Verbindung zugegen, da sich der lösliche Anteil nach dem Glühen der Erde nicht sehr vermehrt. Ein Teil ist in organischen Bodensubstanzen adsorbiert und chemisch gebunden zugegen. Wie SCHLOESING zeigte, entnehmen die Pflanzen ihr Kali dem gelösten Anteil. In Quarzsand kultivierte Gewächse vermögen ihren ganzen Kalibedarf höchst verdünnten Lösungen (1,2—7,5 mg K_2O pro Liter) zu entnehmen, mit welchen der Sand befeuchtet wird. Im natürlichen Boden wird der entzogene Kalianteil dementsprechend leicht aus dem unlöslichen Kalivorrat wieder ersetzt (3). Nach SCHREINER und SKINNER (4) hemmt Cumarinzusatz zum Boden bei Weizenkeimlingen die Aufnahme von Kali und Nitrat, Zusatz von Chinon besonders die Aufnahme von PO_4 und Nitrat; die Ursachen sind unbekannt.

In der Pflanze findet sich das Kali nach BERTHELOT und ANDRÉ (5) zum größten Teil in Verbindungen, die in Wasser leicht löslich sind; ein weiterer Teil davon ist nur in HCl löslich, ein kleiner Teil noch fester gebunden. In 1 kg trockenen Materiales von Mercurialis annua enthielt die Asche 27,87 g K_2O; im wässerigen Auszuge der trockenen Pflanze fanden sich hiervon 18,92 g, im HCl-Extrakte 24,58 g Kali. Bei Festuca aber fand BERTHELOT (6) 72,2% „unlösliches Alkali“ gegen 27,8% lösliches.

Die Erscheinungen des Kalimangels bei Pflanzen haben in neuerer Zeit die Untersuchungen von LÜPKE (7) näher dargestellt. Sodann haben WILFARTH und WIMMER (8) diese Erkrankung für verschiedene Kulturpflanzen gut geschildert und abgebildet. Es sind dies Symptome, welche bei verschiedenen anderen pathologischen Zuständen ebenfalls auftreten können und die wenig charakteristisch sind. Bei Rüben ist die Lamina am Rande und zwischen den Nerven gelblich, dann braun verfärbt, zuletzt weiß werdend, und krümmt sich stark konvex. Nerven und Blattstiel bleiben grün. Ähnlich ist es auch bei anderen Gewächsen. Bei Tabak, Kartoffel, Senf bleiben die Blätter lange Zeit grün, erhalten später gelbliche Flecke und die Blätter werden braun oder grünlichweiß. Nach KOSSOWITSCH (9) beruht die Kleemüdigkeit des Bodens nicht nur auf Mangel an leicht assimilierbarer PO_4, sondern auch auf Kalimangel.

---

1) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *105*, 833 (1887); *141*, 1182 (1905). — 2) TH. SCHLOESING f. Ebenda, *130*, 422 (1900); *137*, 1206 (1903). O. SCHREINER u. G. H. FAILYER, Journ. physic. Chem., *10*, 239, 361 (1906). — 3) Kaliaufnahme aus dem Boden: W. KRÜGER, Ztsch. Verein Dtsch. Zuck.Ind. (1908), p. 739; G. WIMMER, WILFARTH u. KRÜGER, Arb. Dtsch. landw. Ges., Heft 143, p. 169 (1908). — Kalibestimmung im Boden: L. RONNET, Ann. Chim. anal. appl., *13*, 141 (1908); P. DE SORNAY, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *26*, 976 (1909). O. M. SHEDD, Journ. Ind. Eng. Chem., *1*, 302 (1909); BIÉLER-CHATELAN, Compt. rend., *150*, 716 (1910). — 4) O. SCHREINER u. J. SKINNER, U. S. Dept. Agr. Bull., Nr. 77. Bur. of Soils (1911). — 5) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *105*, 911 (1887). — 6) BERTHELOT, Ebenda, *141*, 793 (1905); Ann. Chim. et Phys. (8), *8*, 1 (1906). — 7) R. LÜPKE, Landw. Jahrb., *17*, 887 (1888). — 8) WILFARTH u. WIMMER, Ztsch. Pflanzenkrankh., *13*, 82 (1903). Journ. Landw. (1903), p. 129. WIMMER, Chem.-Ztg., *35*, 1256 (1912). Nährstoffmangel-Erscheinungen unserer Kulturpflanzen, herausgeg. vom Kalisyndikat Berlin 1914. — 9) P. KOSSOWITSCH, Russ. Journ. exp. Landw., *6*, 567 (1905). Kalimangel bei Phaseolus: v. SEELHORST, Ztsch. Pflanzenkrankh., *16*, 2 (1906).

Nach REED (1) erleidet die Stärkebildung in den Chloroplasten und die Karyokinese Störungen bei Eintritt von Kalimangel. Doch fand ECKENBRECHER (2) keinen direkten Einfluß von Kalidüngung auf die Stärkebildung bei Kartoffeln.

Ein Urteil über bestimmte Funktionen des K˙-Ions oder von Kaliumverbindungen für den Pflanzenorganismus können wir aber aus alledem nicht schöpfen, und Erörterungen wie jene von MITTELSTAEDT (3) über einen Zusammenhang der Kaliwirkung mit der Kohlensäureassimilation, Ideen, welche STOKLASA (4) später wieder aufgegriffen hat, oder KEEGANS Anschauungen (5) über eine angebliche das Protoplasma vor Dehydrierung schützende Rolle des Kaliums sind ohne sichere Grundlage. WEEVERS betonte die Bedeutung des Kali für die Eiweißsynthese (6). Nach WEEVERS (7) ist das Kalium besonders in den Plasmavakuolen lokalisiert. In der Tierphysiologie sind Anhaltspunkte für eine spezifische Wirkung der K˙-Ionen auf die Muskelkontraktion gewonnen, worauf die Wirksamkeit der RINGERschen Lösung für die Tätigkeit des überlebenden Herzens beruht (8). Über Beziehungen zwischen Plasmakontraktilität und Kaliwirkung bei Pflanzen ist bisher nichts bekannt.

Natron ist, wie die Bodenanalysen lehren, wenigstens in kleineren Quantitäten ein ubiquitär vorkommender Stoff. Angesichts dieser Tatsache ist es verständlich, daß Natron auch in Pflanzen meist in analytisch bestimmbarer Menge vorkommt. CONTEJEAN (9) fand in mehr als drei Viertel aller untersuchten Landpflanzen Natron; in den übrigen Fällen mögen sich wenigstens Spuren von Natron finden. Es gelingt aber nach DÉHÉRAIN (10) Pflanzen in künstlicher Kultur völlig natronfrei zu erhalten (Kartoffel, Phaseolus), ohne daß ihrem Gedeihen irgend ein Eintrag geschehen würde. Demnach scheinen die Na -Ionen dem Stoffwechselgetriebe im ganzen indifferent gegenüber zu stehen. Auch Versuche mit absichtlich vermehrter Na-Darreichung üben anscheinend keinen Effekt aus, solange die Lösungen nicht zu starke osmotische Wirkungen ausüben. Die von CHARABOT (11) angegebene „beschleunigende Wirkung von $NaNO_3$ auf die Vegetation" kann auch auf der gleichzeitigen Stickstoffzufuhr beruhen. BREAZEALE (12) gibt an, daß Natriummangel stärkeren Kalibedarf zur Folge hat. Wahrscheinlich liegen diesen Beobachtungen Effekte zugrunde, welche mit dem „physiologischen Ionengleichgewicht" in Beziehung stehen (vgl. p. 480) (13).

---

1) H. S. REED, Ann. of Bot., *21*, 501 (1907). — 2) v. ECKENBRECHER u. HOFFMANN, Ztsch. Spirit.Ind., Erg.heft 1914, p. 60. — 3) O. MITTELSTAEDT, Chem. Zentr. (1896), II, 632. — 4) J. STOKLASA, Beiträge z. Kenntnis d. Ernährung der Zuckerrübe. Physiolog. Bedeutung des Kalium-Ions im Organismus d. Zuckerrübe. Jena 1916. — Biochem. Ztsch., *73*, 107 (1916) [im Hinblick auf Eiweiß-Synthese]; ebenda *82*, 310 (1917). Österr.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *44*, 504 (1916). — 5) P. Q. KEEGAN, Chem. News, *106*, 181 (1912). — 6) WEEVERS, Biochem. Ztsch., *78*, 354 (1917); *89*, 281 (1918). Die Bedeutung des K für tierische Entwicklung: J. LOEB, Journ. Biol. Chem., *23*, 431 (1915). — 7) TH. WEEVERS, Rec. trav. bot. Néerland., *8*, 289 (1911). — Verteilung von K und Na in tierischen Geweben: P. J. GÉRARD, Bull. Sci. Pharm., *19*, 265 (1912). — 8) Vgl. z. B. HÖBER, Biochem. Zentr., *1*, Nr. 13 (1903). Bedeutsam ist der Befund, daß ein in K-freier Ringer-Lösung zum Stillstand gebrachtes Froschherz durch Bestrahlung mit Polonium wieder zum Schlagen gebracht werden kann: H. ZWAARDEMAKER, Pflüg. Arch., *173*, 28 (1918); Arch. Néerland. Physiol., 1918, p. 500. Vgl. auch VOORMOLEN, Naturwiss. 1919, p. 895. — 9) CH. CONTEJEAN, Compt. rend., *86*, 1151 (1878). Auch G. BUNGE, Lieb. Ann., *172*, 16 (1874). — 10) P. DÉHÉRAIN, Ann. Sci. Nat. (6), *6*, 340 (1878). — 11) CHARABOT u. HÉBERT, Compt. rend., *134*, 1228 (1902). — 12) BREAZEALE, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1013 (1906). Journ. Agr. Res., *7*, 407 (1916). — 13) Über „Kochsalzdüngung" vgl. BLANCK, Fühlings landw. Ztg., *65*, 441 (1916). B. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *86*, 323 (1915). FAACK, Mitteil. landw. Lehrk.

Nach LESAGE (1) vertragen Pisum sativum und Linum grandiflorum noch eine Chlornatriumlösung von 5 g im Liter, ohne Schaden zu nehmen. Hingegen sind die auf salzhaltigem Boden lebenden Pflanzen, worunter besonders die Flora des Seestrandes zu erwähnen ist, entschieden auf höheren Salzgehalt des Bodens gestimmt. Salicornien wachsen am besten bei 2—3% NaCl (2). LESAGE sah Lepidium sativum noch durch 2½%ige NaCl-Lösung im Gedeihen nicht gehindert. Damit stimmen die von RICOME (3) erzielten Ergebnisse überein. Strukturänderungen scheint reichlichere NaCl-Darreichung bei Nicht-Halophyten nach DASSONVILLE (4) nur in unbedeutendem Grade in den Geweben hervorzurufen.

Daß man typische Halophyten, wie Salsolaarten, auf Na-armem Binnenlandboden kultivieren kann, wurde schon 1818 durch CADET DE GASSINCOURT (5), später durch WIEGMANN und POLSTORFF bewiesen, bei Psamma arenaria in sehr genauen Versuchen auch durch WEIGELT (6); doch erfuhr BATALIN (7), dem wir die ausführlichsten Untersuchungen über dieses Thema verdanken, daß die Kultur der Halophyten manche Schwierigkeit hat. Es gelingt aber sicher ohne Chlornatriumdarreichung in gewöhnlicher Erde Salicornia herbacea zu normaler Entwicklung und Fruchtbildung zu bringen. Die Pflanzen haben dann nicht das succulente, glasige Aussehen der Seestrandexemplare, sondern sind dunkelgrün, undurchsichtig, dünner und zeigen auch mancherlei anatomische Differenzen. Will man normale Salicornien in Kochsalzkultur erhalten, so ist es vorteilhaft, etwas Magnesiumsalz darzureichen. Hier entfaltet also das Na sicher Bildungsreizwirkung, welche durch isosmotische Lösungen anderer Salze nicht erzeugt wird. Sonst ist jedoch bisher kein sicherer Fall spezifischer Natronwirkung bei Pflanzen bekannt. Daß das Na-Ion Wirkungen auf das Protoplasma entfaltet, geht aus den schönen Untersuchungen von OVERTON (8) über die Erhaltung der Erregbarkeit der Muskeln durch Na-Ionen hervor. Li-Ionen können an Stelle von Na-Ionen mit demselben Erfolge treten. Kali hat hingegen diese Wirkung ebensowenig wie Rb und Cs.

Lithium läßt sich in spektroskopisch nachweisbaren Spuren sehr häufig in Pflanzen auffinden, wie besonders FOCKE, TSCHERMAK und HEIN (9) gezeigt haben. Als besonders stark Li-haltig werden Arten von Carduus, Cirsium, Cnicus angeführt, viele Solanaceen, sodann Ranunculaceen, von letzteren besonders Thalictrumarten und Adonis aestivalis. Daß schon sehr kleine Dosen von Li-Ionen schädliche Wirkungen haben können, geht aus Wasserkulturversuchen von NOBBE (10) und von GAUNERSDORFER (11) hervor. Nach den Befunden von HEIN ist aber selbst bei lithionreichen Pflanzen, wie Thalictrum, der Li-Gehalt keine regelmäßige Erscheinung.

Hochschule f. Bodenkult. Wien, I, 443 (1913). HEADLEY, CURTIS u. SCOFIELD, Journ. Agr. Res., *6*, 857 (1916).

1) P. LESAGE, Rev. gén. Bot., *2*, 55 (1890). — 2) HALKET, Ann. of Bot., *29*, 143 (1915). Über Salzpflanzen auch KOLKWITZ, Ber. bot. Ges., *35*, 518 (1917); *36*, 636 (1918); *37*, 343 (1919). MOORE, Ann. Missouri Bot .Gard., *4*, 293 (1917). — 3) H. RICOME, Compt. rend., 13. juill. 1913. — 4) CH. DASSONVILLE, Ebenda, *125*, 794, 856 (1898). Wirkung von Salzlösungen auf Kulturpflanzen: STEGLICH, Ztsch. Pfl.krankh., *11*, 31. — 5) CADET DE GASSINCOURT, Journ. de Pharm. (1818), p. 381. WIEGMANN u. POLSTORFF, l. c. (1842), p. 42. — 6) WEIGELT, Ber. sächs. Ges., *21*, 19 (1869). — 7) A. BATALIN, Regels Gartenflora, *25*, 136 (1876); Bot. Zentr., *21*, Nr. 8 (1885); *27*, 92 (1886). — 8) E. OVERTON, Pflüg. Arch., *92*, 346 (1902); *105*, 179 (1904). — 9) FOCKE, Bot. Ztg. (1873), p. 94. Just (1873), p. 291. Verhandl. naturwiss. Ver. Bremen, *5*, 451 (1876); E. TSCHERMAK, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *2*, 260 (1899); HEIN, Just (1899), II, 185. Lithium in Böden: STEINKOENIG, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 425 (1915). — 10) NOBBE, Landw. Vers.stat., *13*, 399 (1870). — 11) GAUNERSDORFER, Ebenda, *34*, 175 (1887).

Auch Spuren von Rubidium und Caesium wurden als natürlich vorkommende Pflanzenbestandteile sichergestellt. Das letztere wies v. LIPPMANN (1) spektroskopisch in der Asche der Blätter und Wurzeln der Zuckerrübe nach.

Der Reichtum an Alkalimetallsalzen ist in manchen Bodenarten sehr groß [„Alkaliböden" (2)] und dort, wo leichtlösliche Alkalisalze in großer Menge vorkommen und bei trockenem Wetter als Auswitterung den Boden bedecken, wie in der Aral-kaspischen Niederung, in Turkestan, in Colorado, sehen wir eine typische halophytische Vegetation auftreten (3). Neben NaCl bedingt auch das Vorkommen von Magnesiumsalzen und Natriumcarbonat die Nichteignung solcher Böden für viele andere Pflanzen. Die Toleranz verschiedener Pflanzen gegen die Salze von Alkaliböden haben KEARNEY und HARTER (4) untersucht. $CaSO_4$ im Überschuß verminderte sehr die Giftigkeit der Mg- und Na-Salze. Mg war am meisten, Na_2CO_3 am wenigsten wirksam. Hinzuweisen wäre auf die Angaben von MIYAKE (5) hinsichtlich des Einflusses der Salze von Alkaliböden auf das Wachstum der Reispflanze.

Es wäre theoretisch nicht unmöglich, daß durch ungleichen Verbrauch der Ionen von Alkalisalzen sich die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration der Lösung ändert. So erklärt sich vielleicht die ältere Beobachtung von KNOP (6) über das Auftreten alkalischer Reaktion in nitrathaltiger Nährlösung durch einen reichlicheren Verbrauch der NO_3'-Ionen und Zurückbleiben der Metallkationen. Jedoch ist diese Beobachtung in neuerer Zeit nicht wiederholt worden. Die von HOF (7) empfohlene „Reaktion auf Alkali" mit Hilfe einer ätherischen Lösung der Farbsäure von Tetrajodfluorescein, welche rotgefärbte Ionen bei der Salzbildung liefert, ist zu dem angegebenen Zwecke nicht ausreichend. RAWITZ (8) empfahl zu dem gleichen Behufe Azosäureblau B Höchst mit Oxalsäure und Brechweinstein gekocht.

H. Magnesia und Kalk. Vor Anwendung der Wasserkulturmethode hatten verschiedene Beobachter, wie Fürst SALM-HORSTMAR und VOGEL (9) zwar für verschiedene Fälle die Nützlichkeit der Mg-Darreichung erkannt, doch noch nicht so klar die Unentbehrlichkeit des Mg erwiesen, wie es später allen Forschern gelang, welche sich der Wasserkulturmethode bedienten. Heute wissen wir, daß Mg-Verbindungen wohl keinem Protoplasten fehlen. Durch geeignete Reaktionen kann man sehr häufig in frischen Gewebeschnitten Mg-Salze nachweisen (10). SESTINI (11) meinte Anhaltspunkte dafür zu be-

---

1) v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 3492 (1888). — 2) Vgl. P. KOSSOWITSCH, Die Alkaliböden, Russ. Journ. exp. Landw., *4*, 43 (1903). J. B. DAVY, Agr. Ex. Sta. Univ. of California (1898); F. W. TRAPHAGEN u. W. M. COBLEIGH, Journ. Amer. Chem. Soc., *21*, 753 (1899). F. K. CAMERON u. H. E. PATTEN, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1639 (1906). CAMERON, BELL u. ROBINSON, Journ. physical. Chem., *11*, 396 (1907). DE DOMINICIS, Staz. Sper. Agr. Ital., *51*, 103 (1918). — 3) Vgl. die von MAC DOUGAL, The Plant World, *6*, 249 (1903) gegebenen instruktiven Vegetationsansichten aus dem Carnegie-Institution-Laboratorium zu Tucson, Arizona. Ferner: B. KELLER (1914), ref. Bot. Zentr., *131*, 429. — 4) T. H. KEARNEY u. L. HARTER, Bull. 113. Bur. Plant. Industr. U. S. Dept. Agr. (1907). „Welkungskoeffizient" bei Pflanzen auf Alkaliböden: KEARNEY, Bur. Plant. Ind., Circ. *109*, 17 (1914). — 5) K. MIYAKE, Journ. Biol. Chem., *16*, 235 (1913); Journ. Coll. Agr. Un. Sapporo, *5*, Pt. 8 (1914). — 6) W. KNOP, Landw. Vers.stat., *3*, 295 (1861); *4*, 137 (1862). Auch STOHMANN, Lieb. Ann., *121*, 285 (1862). — 7) A. C. HOF, Bot. Zentr., *83*, 273 (1900); Biochem. Journ., *4*, 175 (1909). — 8) B. RAWITZ, Ztsch. wiss. Mikr., *26*, 352 (1910). — 9) A. VOGEL jun., Lieb. Ann., *78*, 195 (1851). — 10) Vgl. O. RICHTER, Sitz.ber. Wien. Ak., *111*, I, 171 (1902). — 11) F. SESTINI, Staz. Sper. Agr. Ital., *15*, 290 (1888); *20*, 256 (1891); Studi nel laborat. chim. agr. Pisa (1893), p. 10. Chem. Zentr. (1888), II, 1622.

sitzen, daß das Beryllium (welches übrigens in der Asche von Pflanzen von Beryll- und Turmalinböden der Insel Elba in kleiner Menge vorkommend gefunden wurde) das Mg in seinen Wirkungen ersetzen könne, mindestens während der Ausbildung der Vegetationsorgane. Doch hat sich in den Untersuchungen von BENECKE (1) diese Ansicht als unhaltbar herausgestellt, und die Wirkung der Mg-Ionen ließ sich bisher durch keine andere Substanz auch nur annähernd erreichen. Da Magnesium im Chlorophyllfarbstoff vorkommt, so ist es für die Tätigkeit der Chloroplasten unentbehrlich. REED (2) sah kein Öl in den Chlorophyllkörnern von Vaucheria bei Mg-Entziehung auftreten. Für Keimlinge von Abutilon fand BURLINGHAM (3) das Maximum der noch ohne Schaden vertragenen Verdünnung von Mg-Salzen in der Nährlösung bei m/32768 bis m/131072. Hemmung des Wachstums trat erst bei relativ sehr großer Menge Mg ein. Düngung des Ackerbodens, besonders mit löslichen Mg-Salzen soll bei überkalkten Böden günstig wirken (4). Bei der Zuckerrübe erzielte STROHMER (5) keine Vorteile durch Mg-Düngung. Bei relativ zu großem Mg-Reichtum fand WARTHIADI (6) Verminderung der Wurzelhaarbildung und Deformationen, ferner hob HANSTEEN (7) hervor, daß Mg ein stärkeres Wurzelgift sei als Na und K.

Die Notwendigkeit der Kalkzufuhr für Pflanzen mit künstlichem mineralischen Nährboden konnte schon den älteren Beobachtern nicht entgehen, da dieselbe für zahlreiche Fälle leicht festzustellen ist. Später erwarb sich besonders BOEHM (8) Verdienste um das Studium der Erscheinungen des Kalkhungers, welche an Bohnenkeimlingen frühzeitig und sehr prägnant hervortreten. Früher war öfters die Ansicht geäußert worden, daß Kalk und Magnesia einander vertreten können, und noch bei MOHL findet sich diese Anschauung, die erst durch die Wasserkulturversuche bestimmt widerlegt werden konnte, wiedergegeben. Als WOLFF (9) bei Haferkulturen den Kalk in steigendem Verhältnis durch Magnesia ersetzte, fand er folgende Ernteergebnisse:

$^1/_4$ des Kalkes ersetzt durch MgO:	37,873 g Stroh;	16,555 g Körner
$^1/_2$ " " " " " :	42,419 g " ;	22,658 g "
$^3/_4$ " " " " " :	29,963 g " ;	15,201 g "
$^7/_8$ " " " " " :	25,185 g " ;	10,186 g "

Dabei spielt das in neuerer Zeit viel beachtete physiologische Gleichgewicht zwischen Ca und Mg eine bedeutende Rolle. Zuerst beobachteten wohl RAUMER und KELLERMANN (10), daß Pflanzen ohne Ca und ohne Mg nicht so rasch zugrunde gehen, als wenn die Nährlösung zwar Mg aber kein Ca enthält. Sowohl BOEHM als später LIEBENBERG (11) und RAUMER fanden große Störungen im Stofftransport bei Kalkhunger. Es ist deshalb eine

---

1) W. BENECKE, Jahrb. wiss. Bot., *28*, 519 (1895). Ber. bot. Ges., Gen.-Vers.-Heft, p. 112 (1894). — 2) H. S. REED, Ann. of Bot., *21*, 501 (1907). — 3) G. S. BURLINGHAM, Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 1095 (1907). — 4) G. DAIKUHARA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 81, 87, 135 (1907). F. NAKAMURA, Ebenda, p. 1 (1906). — 5) F. STROHMER u. O. FALLADA, Österr.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *42*, Heft 2 (1913). Vgl. auch STUTZER, Ist Mg ein wichtiger Düngestoff? Berlin 1917. — 6) D. WARTHIADI, Dissert. München 1911. Schädlichkeit von $MgCO_3$ auf Wurzeln: COUPIN, Compt. rend., *166*, 1006 (1918). — 7) B. HANSTEEN, Jahrb. wiss. Bot., *47*, 289 (1910). — 8) J. BOEHM, Sitz.ber. Wien. Ak., *71*, 287 (1875). Landw. Vers.stat. (1877), p. 51. — 9) WOLFF, Landw. Vers.stat., *10*, 349 (1868). Bestimmung des Kalkbedarfes im Boden: CHRISTENSEN, Zentr. Bakt., II, *49*, 558. — 10) E. v. RAUMER u. CH. KELLERMANN, Landw. Vers.stat. *25*, 25 (1880). RAUMER, Ebenda, *29*, 253 (1883). — 11) v. LIEBENBERG, Sitz.ber. Wien. Ak., *84*, I (1881).

vielfach geäußerte Meinung, daß die Funktionen des Kalkes mit dem Umsatz der Kohlehydrate im Zusammenhang stehen. Wenn GRAFE und PORTHEIM (**1**) fanden, daß die Symptome des Kalkhungers durch Darreichung von Zucker, besonders Fruktose, gemildert werden, so läßt dies aber noch immer keinen bestimmten Schluß in dieser Richtung zu. Die Atmung von Bohnenkeimlingen ist im Zustande des Kalkmangels gegenüber der Norm vermindert (**2**). DÉHÉRAIN (**3**) hatte angegeben, daß höhere Temperaturen die Erscheinungen des Kalkhungers bei Keimlingen bis zu einem bestimmten Grade nicht zum Vorschein kommen lassen. Jedoch konnte PORTHEIM (**4**) nicht zu demselben Resultate gelangen. Der letzterwähnte Autor (**5**) hat den Krankheitsverlauf bei Phaseolus sehr eingehend geschildert: Bräunung der Wurzeln, Aufhören des Wachstums derselben, braune Färbung der Gefäße, Austritt von Flüssigkeitstropfen am Hypocotyl sind stets wiederkehrende Symptome. Die wichtige Rolle des Kalkes geht auch aus den Ergebnissen der Arbeiten von SCHIMPER, HILGARD, HEIDEN und CLARK hervor (**6**).

Nach REED (**7**) ist Kalk für Aktivität und Wachstum der Chloroplasten wichtig und die Mitose findet ohne Kalk nur unvollkommen statt. Kalk und Magnesiadarreichung müssen in einem bestimmten Verhältnis stehen. Die Wachstumsbegünstigung durch Kalk bei Keimlingen von Pisum und Lupinus hebt auch ROBERT (**8**) hervor. WARTHIADI (**9**) betonte das Absterben der Knospen und die Wirkung auf die Zellkerne bei Kalkmangel; aber bei großem Kalküberschuß ist die Behaarung der Wurzel viel besser als bei zu großem Magnesiaüberschuß. Diesbezüglich hat auch HANSTEEN (**10**) Beobachtungen angestellt. UNGER (**11**) fand, daß bei Oenotherakeimlingen infolge des Kalkmangels in den Wurzeln Rhaphidenbildung ausbleibt. Auf Kalkmangel führte WIELER (**12**) auch die Schädigung der Pflanzen durch Hüttenrauch teilweise zurück und sah günstige Wirkung von Kalkung des Bodens. Besonders erwähnt sei die Chlorose, welche bei Kulturpflanzen, die sauren Boden gewöhnt sind [MAZÉ (**13**)] und bei Kieselpflanzen auf Kalkboden eintreten kann. BÜSGEN (**14**) beschrieb diese Erscheinung von Cytisus scoparius und Digitalis purpurea. Nach MAZÉ würde hierbei ein Unlöslichwerden des Eisens durch das Calciumcarbonat und eine ungenügende aufschließende Tätigkeit der Wurzeln solcher Pflanzen als Hauptursache zu nennen sein (**15**).

---

1) V. GRAFE u. L. v. PORTHEIM, Sitz.ber. Wien. Ak., *115*, I, 1003 (1906). Österr. bot. Ztsch. (1906), p. 363. — **2**) L. v. PORTHEIM u. M. SAMEC, Wiesner-Festschr., Wien 1908, p. 113. — **3**) DÉHÉRAIN, Encyclopéd. Chim., *10* (1885). — **4**) L. v. PORTHEIM, Sitz.ber. Wien. Ak., *110*, *1*, 115 (1901). — **5**) L. v. PORTHEIM, l. c. PORTHEIM u. SAMEC, Flora, *99*, 260 (1909). — **6**) SCHIMPER, Ebenda, 1890; E. W. HILGARD, Forschg. Agr. Phys., *10*, 185 (1887). HORNBERGER, Landw. Jahrb., *11* (1882); E. HEIDEN, Chem. Zentr. (1888), II, 1439; J. CLARK, Rep. Meet. Brit. Assoc. Nottingham (1893), p. 818. — **7**) H. S. REED, Ann. of Bot., *21*, 501 (1907). Allgemeines über die Bedeutung des Ca bei HEINZE, Landw. Mitteil. Prov. Sachs. 1912, p. 181. Naturwiss., *3*, 536 (1915). Ca für Permeabilität und Reizbarkeit: J. LOEB, Journ. Biol. Chem., *23*, 423 (1915); HÖBER, Pflüg. Arch., *166*, 531 (1917); Tierische Ernährung: OSBORNE u. MENDEL, Journ. Biol. Chem., *34*, 131 (1918); O. LOEW, Naturw. Ztsch. Land- u. Forstwirtsch., *16*, Heft 9/10 (1918). F. HOFMEISTER, Ergebn. d. Physiol., *16*, 1 (1918). HONCAMP u. DRÄGER, Landw. Vers.stat., *93*, 121 (1919). — **8**) Mlle C. ROBERT, Compt. rend., *156*, 915 (1913). — **9**) D. WARTHIADI, Dissert. München 1911. — **10**) B. HANSTEEN, Jahrb. wiss. Bot., *47*, 289 (1910). — **11**) W. UNGER, Arch. Pharm., *252*, 190 (1914). Zur Biologie des Ca und Ca-Oxalats bes.: STAHL, Flora, *113*, 1 (1919). — **12**) A. WIELER, Pflanzenwachstum u. Kalkmangel im Boden. Berlin 1912. — **13**) P. MAZÉ, RUOT u. LEMOIGNE, Compt. rend., *155*, 435 (1912). — **14**) M. BÜSGEN, Bot. Jahrbücher, *50*, Suppl.-Festband f. Engler 1914), p. 526. — **15**) Vgl. für die Lupinenchlorose PFEIFFER u. SIMMERMACHER,

Nach BENECKE ist ein Ersatz von Ca durch Strontium nicht möglich, Strontiumsalze wirken vielmehr schwach giftig. Doch hatte schon HASELHOFF (1) aus seinen Versuchen geschlossen, daß Strontium bis zu einem gewissen Grade dazu befähigt ist an die Stelle des Kalkes im pflanzlichen Organismus zu treten. Nach HAGER (2) kann man den Kalk zu $^1/_3$—$^2/_3$ durch Sr ohne Nachteil ersetzen, jedoch nicht ganz. Ebenso kam MIYAKE (3) zu dem Ergebnis, daß die Schädigung durch Kalkmangel mittels Strontium verzögert, aber nicht aufgehoben werden kann. Dasselbe fand auch FAACK (4). Nach den Versuchen von COLIN und RUFZ DE LAVISON (5) wird Strontium ähnlich, doch weniger gut aufgenommen als Calcium, Barytsalze hingegen werden im Pericykel der Wurzel abgelagert.

Baryt ist bedeutend giftiger und kann Ca in keiner Weise vertreten, wie schon 1866 durch Wasserkulturversuche von KNOP (6) gezeigt worden war. COLIN und RUFZ DE LAVISON (7) hielten Erbsenpflanzen in 0,125 $^0/_{00}$iger Barytsalzlösung und geben an, daß im zentralen Holzzylinder reichliche, die Zellhohlräume ausfüllende körnige Ablagerungen auftraten.

Sowohl Strontium wie Baryumsalze kommen übrigens in kleinen Mengen recht verbreitet in Pflanzen vor. Von dem Holze der Rotbuche war der Barytgehalt schon SCHEELE (8) bekannt, und wurde wiederholt, in älterer Zeit von ECKARD (9), in neuerer Zeit von HORNBERGER (10), wiedergefunden. Der letztgenannte Autor fand auf barythaltigem Boden in 1000 Teilen Holztrockensubstanz 0,025—0,032 Teile Baryt. In der Asche liegt er als Sulfat vor. Mehrfach erwähnt wird Barytgehalt amerikanischer Astragalusarten: mollissimus u. a. („loco weed") (11) auf barythaltigem Boden, ebenso von Nicotiana. Ein Teil des Ba soll mit Wasser extrahierbar sein und dürfte an organische Säuren gebunden sein.

Das leichte Eindringen von Kalksalzen in Wurzelhaarzellen konnte OSTERHOUT (12) bei Keimlingen von Dianthus barbatus durch das Auftreten von Kalkoxalat in den Zellen direkt verfolgen. Auch in tierische Zellen (Blutzellen) dringt das $Ca^{\cdot\cdot}$-Ion nach HAMBURGER (13) rasch ein. Strontium soll nach COLIN und RUFZ DE LAVISON (14) etwas langsamer aufgenommen werden.

Für das Kalkbedürfnis der Pflanzen kommt, wie die neueren Erfahrungen gelehrt haben, sehr in Betracht, welche Grade von Alkalinität von den

---

Landw. Vers.stat., *93*, 1 (1919); ROBERT, Bull. Soc. Biol., *1*, 84 (1914); HILTNER, Prakt. Blätt. f. Pfl.bau, *5*, 53 (1915); CREYDT, Journ. f. Landw., *63*, 125 (1915); MASONI, Staz. Sper. Agr. Ital., *47*, 674 (1914); CAUDA, Ebenda 627. — Für Vitis: DE ANGELIS D'OSSAT, Ebenda 603. Kalkempfindlichkeit von Linum und Kalidüngung: W. FISCHER, Landw. Presse, *46*, 436 (1919).

1) E. HASELHOFF, Landw. Jahrb., *22*, 851 (1893). — 2) G. HAGER, Arbeit. landw. Vers.stat. Marburg u. Dissert. Dresden 1909. — 3) K. MIYAKE, Bot. Mag. Tokyo, *28*, 1 (1914). — 4) K. FAACK, Mitteil. landw. Lehrk. Hochsch. f. Bodenkult. Wien, *2*, 175 (1914). — 5) H. COLIN u. J. DE RUFZ DE LAVISON, Rev. gén. Bot., *22*, 337 (1910). — 6) KNOP, Landw. Vers.stat., *8*, 143 (1866). MIYAKE, l. c. (1914). Bei den antagonistischen Ionenwirkungen auf Muskel usw. ist Ca viel allgemeiner durch zweiwertige Ionen vertretbar, vgl. HÖBER, Pflüg. Arch., *166*, 531 (1917). — 7) H. COLIN u. J. DE RUFZ DE LAVISON, Compt. rend., *150*, 1074 (1910). — 8) SCHEELE, Opusc. chem. et phys., *1*, 258 (1788). — 9) G. E. ECKARD, Lieb. Ann., *100*, 294 (1856). — 10) R. HORNBERGER, Landw. Vers.stat., *51*, 473 (1899). Ferner FORCHHAMMER, Lieb. Ann., *95*, 84 (1855); DWORZAK, Landw. Vers.stat., *17*, 398 (1874). v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *30*, 3037 (1897). — 11) C. L. ALSBERG, O. F. BLACK u. MARSH, U. S. Dept. Agr. Bur. of Plant. Ind. Bull., 246 (1912); J. S. MAC HARGUE, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 826 (1913). — 12) W. J. V. OSTERHOUT, Ztsch. physik. Chem., *70*, II, Arrhenius-Festband, p. 408 (1909). — 13) H. J. HAMBURGER, Ebenda, *69*, 663 (1910). — 14) H. COLIN u. J. DE RUFZ DE LAVISON, Rev. gén. Bot., *22*, 337 (1910).

Wurzeln ertragen werden. Auch für das Kalkbedürfnis eines Bodens ist dessen Acidität ein wichtiger Faktor (**1**). So wird Lupine nach DE GRAZIA (**2**) auf vesuvianischem Boden durch starke Kalkung geschädigt und nur durch kleine Kalkmengen der Ertrag gesteigert. Calciphile Pflanzen sind an höhere Grade von Alkalinität resp. geringe Aciditätsgrade angepaßt (**3**).

Darreichung von Kalkverbindungen als Düngemittel spielt bekanntlich in der landwirtschaftlichen Praxis eine große Rolle. Doch handelt es sich in der Regel nicht um eine Melioration durch Beseitigung von Kalkarmut des Bodens, sondern um Applikation eines „indirekt wirkenden" Düngemittels. So pflegt man die in der Praxis so vielfach erprobte günstige Wirkung von Gipsdarreichung bei Klee sich meist verständlich zu machen durch Umsetzung des $CaSO_4$ mit unlöslichen Kaliverbindungen (**4**). Wohl auch kohlensaurer Kalk und Ätzkalk mögen mindestens zum Teil ihre günstige Wirkung auf diesem Wege entfalten. Doch kommen auch Änderungen der physikalischen Bodenbeschaffenheit (Mergelwirkung!) und andere Faktoren in Betracht. Ätzkalk erhöht die Durchlässigkeit, mehr in feuchten als in trockenen Böden. $CaCO_3$ vermindert die Durchlässigkeit im lufttrockenen Boden und erhöht dieselbe im feuchten Boden (**5**). Entsprechend der vielgestaltigen Wirkung des Kalkes werden die Effekte einer Überkalkung auch sehr verschiedenen Ursprunges sein, und man wird nur für ganz bestimmte Fälle eine Sanierung durch Magnesiadarreichung ins Auge fassen können (**6**). Die Wurzeln fand WARTHIADI (**7**) bei großem Ca-Überschuß viel weniger geschädigt als bei zu großem Mg-Gehalt des Substrates. Die schädlichen Wirkungen der überstarken Kalkung von Hochmoorböden dürften auf bakterieller Nitritbildung beruhen (**8**).

Nach D. MEYERS ausführlichen Untersuchungen über den Kalkgehalt verschiedener Bodenarten und über Kalkdüngung (**9**) schwankt der Kalkgehalt in verschiedenen Ackerböden zwischen 0,092 und 1,271%; bei leichten Bodenarten ist er im Mittel 0,33%, bei schweren 0,69%. Als normaler,

---

1) Vgl. LEMMERMANN, O. FÖRSTER u. EINECKE, Landw. Jahrb., *40*, 255 (1911). Bedeutung von Ca im Boden auch J. PENKAWA, Bot. Zentr., *125*, 344 (1914). Kalkbedarf im Boden: HUTCHINSON u. MC LENNAN, Chem. News, *110*, 61 1914). — **2**) S. DE GRAZIA, Staz. Sper. Agr. Ital., *40*, 351 (1907). — Kalkbedürfnis der Gerste u. Hirse: J. KONOWALOW, Landw. Vers.stat., *74*, 343 (1911). Vgl. auch O. LOEW, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *8*, 603 (1905). — **3**) Hierzu auch W. RUSSELL, Assoc. Avanc. Sci. 36. Sess. (1907), p. 521. C. LE GENDRE, Bull. Soc. Bot. (4), *8*, 248 (1908). Für Digitalis: CHODAT, Bull. Soc. Bot. Genève (2), *5*, Nr. 9 (1913). — Der auf kalkarmem Gestein wachsende Farn Camptosorus rhizophyllus enthält in der Asche 30—40% CaO: WHERRY, Journ. Wash. Acad. Sci., *6*, 672 (1916). — Für die Hochgebirgspflanzen Schwedens vgl. TENGWALL, Svensk. Bot. Tidskr., *10*, 28 (1916). — **4**) Vgl. A. MAYER, Düngerlehre, Lehrb. Agr. Chem., II (2), p. 191 (1902), 5. Aufl. GRAF ZUR LIPPE, Fühlings Landw. Ztg. (1878), p. 728. — **5**) Vgl. E. BLANCK, Landw. Jahrb., *38*, 715 (1909). Über Kalkdüngung vgl. FR. SCHWARZ, Ztsch. Forst- u. Jagdwesen, *44*, 316 (1912). Sodann O. LOEW, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *8*, 583 (1905); Landw. Jahrb., *35*, 527 (1906). Prakt. Blätter f. Pfl.bau u. Pfl.schutz (1909), Heft 6, p. 77. G. DAIKUHARA, Bull. Ex. Sta. Tokyo (1906), *1*, 1. Kalkdüngung bei Holzpflanzen: CHANCEREL, Rev. gén. Bot., *25bis*, 83 (1914). Vorteile von Calciumsilicat: MC INTIRE u. WILLIS, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 1005 (1914). Kalkzufuhr: B. HEINZE, Landw. Mitteil. Prov. Sachs. (1912), p. 181. $CaCO_3$ bei Pisum: MOROSOW (1916), ref. Bot. Zentr., *138*, 198. — **6**) Vgl. S. MAKI u. S. TANAKA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 61 (1906). — **7**) D. WARTHIADI, Dissert. München (1911). Vgl. auch B. HANSTEEN, Jahrb. wiss. Bot., *47*, 289 (1910). P. KRISCHE, Kali, *13*, 245 (1919). A. FELBER, Ernähr. d. Pfl. *15*, 73 (1919). — **8**) A. DENSCH, Landw. Jahrb. (1913), p. 331. DENSCH u. ARND, Zentr. Bakt. (II), *40*, 83 (1914). Die Ansichten von G. A. RITTER, Fühlings landw. Ztg., *61*, 593 (1912) sind widerlegt. ARND, Landw. Jahrb., *47*, 371 (1915); *49*, 191 (1916). Saure Humusböden: S. ODÉN, Mitteil. forstl. Vers.wes. Schwedens, *14*, 1287 (1918).— **9**) DIEDR. MEYER, Landw. Jahrb., *29*, 913 (1900); *30*, 619 (1901); *33*, 371 (1904).

nach der Methode von KELLNER ermittelter Ca-Gehalt kann 0,25% gelten; unter 0,20% sollte derselbe nicht sinken. In den meisten Fällen ist nur 25—30% des Gesamtkalkes als Carbonat zugegen. Nach der Löslichkeit gruppiert SHOREY (1) den Kalk im Boden wie folgt: Gesamt-Ca 0,27 bis 6,58%; wasserlöslich: Spuren —0,09; säurelöslich 0,02—5,72; kohlensäurelöslich 0,04—5,79; wasserlösliches Sulfat: Spuren —0,18%. Die Löslichkeit des kohlensauren Kalkes hängt sehr vom Grade der feinen Verteilung ab (2). $CaCO_3$ wirkt als Kalkersatz entschieden am vorteilhaftesten. Doch wird nachweislich sogar Calciumsilicat von den Wurzeln aufgenommen (3), aber dabei weit mehr SiO_2 als CaO. Da die Pflanzenwurzeln reichlich CO_2 erzeugen, so spielt, wie schon LASSAIGNE (4) erkannte, die Löslichkeit von Calciumcarbonat und Calciumphosphat in CO_2-haltigem Wasser eine wichtige Rolle bei der Aufnahme des Kalkes durch die Wurzeln. Auch kommen die mannigfachen chemischen Wirkungen (Bildung organischer Säuren) durch den Stoffwechsel der Bodenmikroben bei der Aufschließung der Kalksalze im natürlichen Bodensubstrate wesentlich in Betracht (5). Wenn die Kalkverbindungen in die Zelle eintreten, so bieten sich wieder gänzlich geänderte Lösungsverhältnisse dar, und schon der Zuckergehalt der Lösungsmittel in der Zelle muß die Löslichkeit der schwerlöslichen Kalksalze namhaft besser gestalten als im umgebenden Medium (6).

Versuche, die Verbindungen des Kalkes in der Pflanze nach deren Löslichkeit im Wasser, Säuren usw. in Gruppen zu gliedern und quantitativ zu bestimmen, liegen von ASO und LOEW (7) vor. LOEW fand pro 100 Teilen Trockensubstanz

Ca löslich in:	Wasser	Essigsäure	Salzsäure
Kartoffel	0,332	0,875	1,586
Buchweizen	0,056	0,367	1,524
Klee	0,858	0,742	0,489
Gerste	0,438	0,259	Spur

Die wasserlöslichen Kalkverbindungen treten also gegen die wasserunlöslichen sehr zurück. Calciumoxalat gehört in die 3. Gruppe. Übrigens ist im einzelnen über die Kalkverbindungen noch wenig bekannt. Im Einklange mit früheren Angaben von CHURCH fand ASO in den weißen Blattpartien von panachierten Arundoblättern weniger Ca als in den grünen Teilen.

Es wurde schon erwähnt, daß für Pflanzenproduktion und die Ökonomie der Ernährung das Verhältnis zwischen den im Substrate vorhandenen Ca- und Mg-Mengen von hoher Bedeutung ist. Nachdem schon 1883 RAUMER darauf aufmerksam gemacht hatte, daß Pflanzen bei Abwesenheit von Kalk im Substrat früher zugrunde gehen, wenn Mg-Salz dargeboten wird, als wenn auch dieses fehlt, beobachtete LOEW (8) dieselbe schädliche Wirkung von Magnesiumsalzen bei kalkfrei kultivierten Spirogyren. LOEW und HONDA (9) konnten sodann für junge Pflanzen von Cryptomeria, Thuja und Pinus densiflora sicherstellen, daß diese Coniferen auf Kalkboden auch dann noch

1) SHOREY, FRY u. HAZEN, Journ. Agr. Res., *8*, 57 (1917). — 2) HAGER u. KERN, Journ. f. Landw., *64*, 325 (1917). Bindung des Kalkes durch Bodenkolloide: HAGER, Ebenda, *65*, 245 (1916). — 3) H. MIETH, Landw. Vers.stat., *74*, 81 (1910). — 4) J. LASSAIGNE, Ann. Chim. et Phys. (3), *25*, 346 (1849); Compt. rend., *28*, 73 (1849). — 5) Hierzu z. B. A. STALSTRÖM, Zentr. Bakt., II, *11*, 724 (1904). — 6) Löslichkeit von Kalk in zuckerreichen Flüssigkeiten: J. WEISBERG, Bull. Soc. Chim. (3), *21*, 773 (1899). Keine Beziehung zwischen Acidität der Pflanzensäfte u. Ca-Versorgung: KAPPEN u. ZAPFE, Landw. Vers.stat., *93*, 135 (1919). — 7) K. ASO, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *5*, 239 (1902). — 8) O. LOEW, Flora 1892, p. 381. — 9) LOEW u. HONDA, Bull. Agr. Coll., *2*, Nr. 6 (1896).

gedeihen, wenn die vorhandene Mg-Menge relativ sehr gering ist; ferner, daß die Eignung des Bodens sehr deutlich abnimmt, wenn die Mg-Menge darin die Ca-Menge bedeutend übertrifft. Es studierte sodann Aso (1) an Wasserkulturen von Gerste, Weizen, Reis, Sojabohne und Allium Cepa planmäßig dieses Verhältnis und suchte das optimale Verhältnis zwischen Ca und Mg zu ermitteln. Dasselbe war nicht überall gleich. Während für junge Triticumpflanzen und Reis das beste Verhältnis CaO:MgO = 1:1 war, entwickelte sich Gerste am besten, wenn doppelt so viel Ca geboten war als Mg, Soja hispida, wenn der Kalkgehalt der Nährlösung den Mg-Gehalt um das 2—3fache übertraf; für Allium waren die Relationen 2:1 und 1:1 die besten. Im Anschlusse daran stellte Furuta (2) fest, wie die Kalk- und Magnesiadüngung im Boden vorgenommen werden muß, damit der beste Ertrag erzielt werde. Er fand das optimale Verhältnis von CaO:MgO für Buchweizen 3:1, für Kohl 2:1 und für Hafer 1:1. Für Gewächse mit großen Blattflächen erwies sich im allgemeinen ein relativ höherer Kalkgehalt des Substrates als notwendig. Ist der Kalkgehalt im Verhältnisse zum Mg-Gehalte des Substrates vorteilhaft, so entwickeln sich die Wurzelhaare sehr stark, während bei zu reichlicher Gegenwart von Mg die Wurzelentwicklung leidet. O. Loew (3) hat hierauf, auf den Erfahrungen seiner Schüler fußend, die Wichtigkeit der Ermittlung des „Kalkfaktors", wie das Verhältnis CaO/MgO im Substrate genannt wurde, in ausführlicher Darlegung hervorgehoben. Übereinstimmende Resultate enthält ferner eine Arbeit von Aso (4) über die an Morus auf allzu Mg-reichem Boden auftretende Blattkrankheit, und die Darstellung der Experimente von Daikuhara (5) über das optimale Verhältnis von Ca:Mg für Phaseolus. Nach Loew ist der optimale Wert des „Kalkfaktors" für Cerealien und Linum 1:1 oder 2:1; für blattreiche Pflanzen wie Leguminosen 3:1. Ein Organ enthalte um so mehr Kalk und benötige einen um so größeren Kalkfaktor, je größer seine Zellmasse sei; in Zellkern und Chloroplasten seien „Kalkproteinverbindungen" in viel größerer Quantität vorhanden. Bei magnesiumreicher und kalkarmer Nahrung soll sich nach Loews Hypothese das Mg an die Stelle des Ca setzen, was Desorganisationserscheinungen an Kern und Chlorophyllkörnern zur Folge hätte (6). Loew hob hervor, daß Oxalsäure ähnliche toxische Wirkungen entfalte, wie allzureichliche Magnesiazufuhr. Dies deutet er ebenfalls dahin, daß die Oxalsäure den „Kalkproteinverbindungen" den Kalk entreiße, und infolge dieses Umstandes Degenerationserscheinungen, ähnlich wie Mg-Zufuhr, bedinge (7). Eine gewisse Stütze verleihen der Theorie Loews die Feststellungen, daß kernlose tierische Blutzellen sich durch mangelnden Kalkgehalt von kernhaltigen unterscheiden (8); leider wirken

---

1) K. Aso, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 361 (1902); *6*, 97 (1904). T. Katayama, Ebenda, *6*, 103 (1904). — 2) T. Furuta, Ebenda, p. 371. — 3) O. Loew, The Relation of Lime and Magnesia to Plant Growth, Washington (1901). Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 381 (1902). Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *8*, 583, 603 (1905); Landw. Jahrb., *34*, 131 (1905); *35*, 527 (1906). Prakt. Blätter f. Pfl.bau u. Pfl.schutz, *7*, 77 (1909); Landw. Jahrb., *39*, 335, 1005 (1910); ebenda (1912), p. 181; Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 257 (1913). Landw. Jahrb., *46*, 733 (1914). Die Lehre vom Kalkfaktor. Berlin 1914. — 4) Aso, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *5*, 495 (1903). — 5) G. Daikuhara, Ebenda, p. 501. — 6) O. Loew, l. c.; Landw. Jahrb. 1902 u. 1903; Flora (1892), p. 381; (1903), p. 489; Bot. Zentr., *50*, 72 (1892); Landw. Jahrb., *34*, 131 (1905). Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 7 (1906). — 7) O. Loew, Münch. med. Woch.schr. (1910), Nr. 49; Biochem. Ztsch., *38*, 226 (1912). Flora, *105*, 447 (1913). Bezüglich Säurebindung durch Kalk auch P. Q. Keegan, Chem. News, *106*, 181 (1912). — 8) Cl. Hörhammer, Biochem. Ztsch., *39*, 270 (1912); auch F. Winkler, Nat. Ges. (1913), II, *2*, 298, fand zellkernreiche tierische Organe kalkreich.

Oxalate auf kernlose Blutzellen nicht anders ein als auf kernhaltige. Ferner meinte STARKENSTEIN (1) die Oxalatwirkung auf Tierorganismen wesentlich als Kalkentziehung auffassen zu müssen und vergleicht kalkfällende Säuren und Magnesiumsalze in ihrer toxikologischen Wirkung. Allerdings kann beim Tier im Gegensatz zur Pflanze Mg den Kalk teilweise funktionell ersetzen.

Die Lehre vom „Kalkfaktor" ist wiederholt einer ablehnenden Kritik unterzogen worden. Von mehreren Seiten wurde behauptet, daß die Grenzen der günstigen Relation durchaus nicht immer so eng seien, wie LOEW und seine Schüler angaben. So war in Versuchen von HAGER (2) der Spielraum von Ca/Mg recht weit; die Wirkung der Werte 1:0,1, 0,3, 0,4 war ziemlich gleich; 1:1 hatte Schädigung zur Folge. Übrigens ist auch nach DAIKUHARAS Angaben (3) in Japan häufig ein Verhältnis Ca/Mg = 30:1 zweckmäßig, während ASO (4) den Kalkfaktor mit 1:1 für Reis fand. Für Tabak ist nach DAIKUHARA (5) der Kalkfaktor 4:1, ebenso die Relation Ca/Mg in der Asche der Pflanze. Für Polygonum tinctorium wurde der Kalkfaktor mit 1:1 oder 2:1 (6), für Morus mit 3:1 angegeben (7). BERNARDINI und CORSO (8) fanden für Roggen, Weizen, Bohne 1:1, Mais, Zwiebel, Lein und Spinat 2:1, für Leguminosen 3:1. Die Relation Ca/Mg soll nach diesen Autoren auch auf die PO_4-Aufnahme Einfluß haben. Für Avena fand SIRKER (9) 1:1; derselbe Wert gilt nach NAMIKAWA (10) für Linum und Spinacia. Für die Stengelentwicklung der Samenrüben ist nach FALLADA (11) der Kalkfaktor anscheinend bedeutungslos, umso ausgesprochener die Wirkung auf die Knäuelbildung. Bei einem Kalkfaktor 3:1 war die Ernte fast noch einmal so hoch als bei 1:3. Auch andererseits wird eine Relation 3:1 als günstigste angegeben (12). Der Ansicht, daß die Relation Ca/Mg wichtig sei, geben auch REED sowie TOTTINGHAM Ausdruck (13).

Die Kritik hat teilweise die Bedeutung des „Kalkfaktors" gänzlich in Abrede zu stellen versucht. So meint D. MEYER (14), daß vor allem die Beziehung des Kalkgehaltes zum Säuregehalt des Bodens als maßgebend in Betracht komme. LEMMERMANN (15) fand, wie andere Forscher, Schwankungen des Kalkfaktors innerhalb erheblicher Unterschiede ohne Wirkung auf den Ertrag. In der Tat müssen die Angaben über Spinacia (s. o.), wo doch die Pflanze gewiß ein blattreiches Gewächs ist, sowie bezüglich Polygonum, ähnliche Bedenken erwecken. Nach P. L. GILE (16) wäre der Kalkfaktor abhängig von der Konzentration und sein Spielraum bei großer Ver

1) E. STARKENSTEIN, Arch. exp. Pathol., *77*, 45 (1914). Wien. klin. Woch.schr. (1913), Nr. 30. — 2) G. HAGER, Arbeit. landw. Vers.stat. Marburg; Dissert. Dresden 1909. — 3) G. DAIKUHARA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 23 (1906). — 4) K. ASO, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 171 (1909). — 5) DAIKUHARA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 17 (1906). — 6) T. IMASEKI, Ebenda, *1*, 125 (1908). — 7) M. NAKAMURA, Ebenda, p. 129. — 8) L. BERNARDINI u. G. CORSO, Staz. Sper. Agr. Ital., *41*, 191 (1908); *42*, 369 (1909). — 9) J. N. SIRKER, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 183 (1909). — 10) S. NAMIKAWA, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 57 (1906). — 11) FALLADA u. GREISENEGGER, Österr.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind., *45*, 107 (1916). Für die Ammonisation: KELLEY, Zentr. Bakt., II, *42*, 519 (1914). — 12) THOMAS u. FREAR, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 1022 (1915). — 13) H. S. REED, Ann. of Bot., *21*, 501 (1907); W. E. TOTTINGHAM, Physiol. Research. Baltimore, *1*, 133 (1914); L. BERNARDINI u. C. CORSO, Progr. agr. et vit., *58*, 465 (1914). BERNARDINI u. A. SINISCALCHI, Ebenda, p. 493. MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *1*, 473 (1918); STUTZER, Ist Magnesia ein wichtiger Düngestoff? Berlin 1917. — 14) D. MEYER, Landw. Jahrb., *39*, Erg.bd., III, p. 254 (1910). — 15) O. LEMMERMANN, EINECKE u. H. FISCHER, Ebenda, *40*, 173 (1911); *50*, 617 (1917). Vgl. ferner R. STEWART, Journ. Ind. Eng. Chem. (1911), p. 376. — 16) P. L. GILE, Bull. U. S. Agr., *12* (1913). F. PISCIOTTA, Staz. Sper. Agr. Ital., *46*, 643 (1913); E. HASELHOFF, Landw. Jahrb., *45*, 609 (1914).

dünnung weiter. Auch auf die früheren Arbeiten von ULBRICHT (1) und besonders auf jene von BRUCH (2) ist hinzuweisen, welche die Frage noch von anderen Seiten beleuchten.

Besonders ist zu prüfen, ob die Mg-Wirkung in bezug auf Ca tatsächlich etwas Spezifisches ist. Dafür sprechen verschiedene Umstände nicht. Es berichtete BENECKE (3), daß auch andere Salze und Salzgemische (KNO_3 + KH_2PO_4) bei Wasserkulturpflanzen Erkrankungen erzeugen, die gleichfalls durch Kalkzusatz paralysiert werden können. Während LOEW angab, daß Ba und Sr ähnliche Wirkungen entfalten wie Mg, konnte BRUCH nicht finden, daß sich Kalkmangel in Ca-freien Lösungen durch diese Stoffe heilen läßt. Dieser Forscher konstatierte zwar, daß Weizenkeimlinge in reinen Mg-Salzlösungen länger am Leben blieben als in kalkfreien, alle übrigen nötigen Salze enthaltenden Nährlösungen, doch bestreitet er, daß der Tod der Pflanzen in kalkfreier Lösung immer früher eintreten müsse als in Ca- und Mg-freien Kulturen. DOJARENKO (4) und GÖSSEL (5) haben gleichfalls dargelegt, daß die physiologischen Wechselbeziehungen zwischen Ca und Mg nicht ganz so einfach liegen, wie sie die LOEWsche Hypothese darstellt, und der Kalk nicht schlechtweg einem Mg-Überschuß die Wagschale zu halten hat. Gewiß sind aber Ca und Mg an dem notwendigen physiologischen Gleichgewichte hervorragend beteiligt, und es sei nochmals hervorgehoben, daß es für die entgiftende Wirkung der Ca-Ionen andere Analoga gibt. LOEB (6) fand, daß die Eier des Teleostiers Fundulus in reiner, dem Seewasser isotonischer NaCl-Lösung rasch zugrunde gehen, wenn man nicht durch den Zusatz von bestimmten mehrwertigen Kationen dem schädlichen Einfluß des Na begegnet. 1 Äqu. Ca-Ionen vermögen dabei 1000 Äqu. Na-Ionen zu entgiften. Froschmuskeln zucken andauernd in Lösungen reiner Na-Salze; sie hören aber auf, wenn man eine kleine Menge eines mehrwertigen Ions wie $Ca^{\cdot\cdot}$, $Sr^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, $Be^{\cdot\cdot}$, $Co^{\cdot\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$, $Al^{\cdot\cdot\cdot}$ zusetzt (7). So bedarf auf dem Gebiete der Ca- und Mg-Versorgung der Pflanzen durch die Wurzeln noch manche Frage einer viel umfassenderen Behandlung, als es durch die LOEWsche Hypothese möglich ist, die doch nur einen ganz bestimmten Gesichtspunkt entwickelt, der nicht immer der wichtigste sein muß.

Biologisch ist es bedeutsam, daß die Kalksalze durch Kohlensäure als Lösungsmittel bei Gegenwart von Eiweiß kolloide Lösungen bilden, wie Fr. HOFMEISTER (8) zeigte. Die Vorgänge bei der Verkalkung (tierischer) Gewebe hätte man sich nach Wo. PAULI (9) so zu denken, daß Bindung des Ca an Eiweißstoffe vorausgeht, und die Ca-Salze durch Abbau dieser Eiweiß-

---

1) R. ULBRICHT, Landw. Vers.stat., *52*, 383 (1899); *57*, 103 (1902). — 2) P. BRUCH, Landw. Jahrb. (1901), Erg.bd. III, 127. — 3) BENECKE, Bot. Ztg. (1898), I, 93; (1903), I, 79; (1904), II, 115. — 4) A. DOJARENKO, Bot. Zentr., *95*, 470 (1904). — 5) FR. GÖSSEL, Verh. Nat. Ges. (1903), II, *1*, 101. — 6) J. LOEB, Amer. Journ. Physiol., *3*, 327 (1900); Pflüg. Arch., *80*, 229 (1900); *88*, 68 (1902). — 7) J. LOEB, Ebenda, *91*, 248 (1902); *101*, 340; *103*, 503 (1904). C. HERBST, Arch. Entw.mech., *17*, 306 (1904). Nach SABBATANI, Chem. Zentr. (1902), II, 1331, gibt es auch Antagonismus von Ca und Trinatriumcitrat. Ciliarbewegung: R. S. LILLIE, Amer. Journ. Physiol., *10*, 419 (1904). Ferner G. BUGLIA, Ztsch. Biol., *55*, 343 (1911); *54*, 250 (1910). J. S. MELTZER u. J. AUER, Zentr. Physiol., *21*, 788 (1907). Beschleunigung der amöboiden Bewegung durch Ca: H. J. HAMBURGER, Kgl. Ak. Amsterdam, *19*, 12 (1910). Antagonismus Ca:Mg; J. GOMEZ-OCANÃ, Rev. Real Accd. Cienc. Madrid 1910. — 8) FR. HOFMEISTER, Ergebn. d. Physiol., *10*, 429 (1910). — 9) WO. PAULI, Wien. med. Woch.schr., *60*, 2288 (1910). Über Kalk und Mg im Tierkörper: J. MALCOLM, Journ. of Physiol., *32*, 183 (1905); L. SABBATANI, Arch. ital. Biol., *46*, 361 (1905); ALBU u. NEUBERG, Physiol. u. Pathol. des Mineralstoffwechsels. Berlin 1906; H. ARON u. R. SEBAUER, Biochem. Ztsch., *8*, 1 (1908); M. KOCHMANN, Ebenda, *27*, 85 (1910).

stoffe frei werden; dabei ist zu beachten, daß die Löslichkeit der Calciumphosphate in Albumoselösung geringer ist als die Löslichkeit von $CaCO_3$.

III. Das Eisen und andere Schwermetalle. Es gelang 1843 zuerst E. GRIS (**1**) nachzuweisen, daß bei gänzlicher Abwesenheit von Eisenverbindungen im Substrate die Blätter der Pflanzen bleichsüchtig, chlorotisch werden, und daß man diese Erkrankung durch Darreichung von Eisensalzen in kleiner Menge sicher heilen könne. SALM-HORSTMAR konnte diese Entdeckung voll bestätigen, und Untersuchungen von J. SACHS (**2**), STOHMANN (**3**), MOLISCH (**4**) haben diese merkwürdige Erscheinung, welche durch die Konstatierung der Abwesenheit von Eisen im Chlorophyllfarbstoff (Bd. I, p. 572) noch interessanter geworden ist, in allen Details mit Evidenz sichergestellt. Gewöhnlich fügt man den Wasserkulturen etwas Eisenphosphat, Eisensulfat oder Eisenchlorid zu, also mit gleichem Erfolge das zwei- und dreiwertige Eisen-Ion. Doch sind auch eine Anzahl komplexer eisenhaltiger Ionen und wahrscheinlich auch eisenhaltige Nichtelektrolyte mit Erfolg anwendbar. So kann Ferrocyankalium nach KNOP (**5**) und WAGNER (**6**) statt der einfachen Fe-Ionen dargereicht werden, auch weinsaures Eisenoxydkali u. a. komplexe Ionen. Nach GILE (**7**) wirken am besten Sulfat, Citrat und Tartrat. $FeCl_3$ ist minder gut, dialysiertes Fe untauglich. Das Optimum lag für Oryza bei 0,008 g pro Liter; 0,002 g wirkte schlechter. Kolloidales Eisen wird durch Reis nicht assimiliert. MOLISCH hat gezeigt, daß so kleine Eisenmengen ausreichend sind, daß bei Phaseolus multiflorus ohne Amputierung der Cotyledonen nie rein weiße Blätter zu erzielen sind; hier genügt offenbar der in den Keimblättern vorhandene Eisenvorrat, um auf sehr lange Zeit hochgradige Chlorose zu verhindern. Bemerkt sei, daß ein Transport von Fe aus alten Blättern in junge offenbar auf Schwierigkeiten stößt, da nur die jungen Blätter chlorotisch werden und die älteren grün bleiben.

In Wiese, Feld und Wald ist Chlorose keine häufige Erscheinung; in Gärten aber, wo es gilt das Wachstum der Pflanzen möglichst üppig und schnell zu gestalten, gehört diese Erkrankung nicht zu den Seltenheiten, und SACHS hat zu ihrer Heilung praktische Ratschläge gegeben (1888 l. c.). Besonders die Fälle, in denen man im Freien ganz vereinzelte chlorotische Pflanzenindividuen unter vielen Hundert normalen Pflanzen findet, weisen darauf hin, daß nicht immer ausgesprochener Eisenmangel im Bodensubstrat die Chlorose erzeugen muß. Abnorm gesteigerter Eisenbedarf, wie er bei sehr raschem Wachstum von zurückgeschnittenen Baumkronen eintreten kann, genügt, um wenigstens schwach und vorübergehend Chlorose zu erzeugen. Daß Stoffwechselanomalien es ebenfalls bedingen können, daß einzelne Sprosse für ihr Wachstum nicht genügend Eisen erhalten, ist leicht möglich, und so mögen sich viele noch nicht hinreichend aufgeklärte Vorkommnisse von Chlorose im Freien erklären. Auch die von HEINRICHER (**8**) bei autotroph gezüchteten Hemiparasiten aus den Gattungen Euphrasia und Odontites beobachteten Chloroseerscheinungen gehören in

---

1) EUSÈBE GRIS, De l'action de comp. ferrug. sur la végétation (1843). Ferner A. GRIS, Ann. Chim. et Phys. (4), *7*, 201 (1857). — **2**) J. SACHS, Flora (1862); Experim. Physiol. (1865), p. 142; Naturwiss. Rdsch. (1886), p. 257; Arb. Bot. Inst. Würzburg, *3*, 433, 559 (1888). — **3**) STOHMANN, Landw. Vers.stat., *6*, 350 (1864). — **4**) H. MOLISCH, Pflanze u. Eisen (1892), p. 90. — **5**) KNOP, Ber. sächs. Ges. Leipzig, *25*, 8 (1869). — **6**) WAGNER, Landw. Vers.stat., *13*, 74 (1870). HASELHOFF, Landw. Jahrb. *47*, 338 (1914) fand bei Bohnen Ertragsverminderung. — **7**) GILE u. CARRERO, Journ. Agr. Res., *7*, 503 (1916); *3*, 205 (1914); *7*, 83. — **8**) E. HEINRICHER, Jahrb. wiss. Bot., *32*, 442 (1898).

dieses Gebiet mit hinein. Wenn auch Spuren von Eisen keinem Ackerboden fehlen, und die Menge, wie die Erfahrung lehrt, stets ausreichend ist, um Chlorose der Pflanzen zu verhindern, so kann es besonders bei sehr gesteigerter Pflanzenproduktion nicht ohne Vorteil in bestimmten Fällen sein, Eisendüngung anzuwenden. Hierbei ist auch zu beachten, daß die Eisenverbindungen durch chemische Reizwirkungen die Pflanzenproduktion entschieden steigern, sobald ihre Dosis nicht ein gewisses Maximum überschreitet. Dieses liegt aber nach THOMSON (**1**) sehr niedrig. Schon 0,0005% lösliches Eisensalz tötet in einigen Tagen die Würzelchen von Wasserkulturpflanzen ab, und zweifellos könnten durch größere Beimengungen von Eisenvitriol zum Dünger, wie es zu Desinfektionszwecken bei Abtrittdünger vorkommen kann, eventuell Schädigungen von Kulturen eintreten (**2**). Doch erfolgen rasch Umsetzungen der löslichen Eisensalze im Boden, und es ist eine bekannte Tatsache, daß im Humusboden die zugeführten Eisenverbindungen bald in unlösliche Formen übergeführt werden, teils durch chemische Umsetzungen, teils mögen auch Speicherungs-, Lösungs- und Adsorptionswirkungen mit in Frage kommen. Alkalische Reaktion des Substrates erschwert allgemein die Eisenassimilation. Nach GILE und CARRERO (**3**) liefert nur das Tartrat genügend Fe in alkalischer Lösung bei Oryza. Mais wird bei Überschuß von $CaCO_3$ in der Nährlösung chlorotisch (**4**). Dieselbe Erfahrung machten MONNIER und KUCZYNSKI (**5**) bei Zufügung von $CaCO_3$ oder $MgCO_3$ zu Böden in Topfkulturen. Hortensiablüten werden dann auch nicht mehr blau. Mehrfach wurde über günstige praktische Erfolge durch Eisensulfatdüngung berichtet, so von KÖNIG (**6**) und besonders von GRIFFITHS (**7**). Vielleicht sind hierbei tatsächlich chemische Reizwirkungen im Spiele, doch wird von KELLNER (**8**) und anderen Agrikulturchemikern eine „indirekte" Wirkung der Eisensulfatdüngung durch Aufschließung und Umsetzung von Bodenbestandteilen in den Vordergrund gestellt. Durch reichliche Eisendüngung wird wohl meist der Eisengehalt der Pflanzen erheblich gesteigert werden können (**9**).

VAUBEL (**10**) meinte Anhaltspunkte dafür zu haben, daß das Eisen in Form komplexer Verbindung durch die Pflanzen aufgenommen wird, welche aus Ammoniumnitrat und metallischem Eisen entsteht. Diese Verbindung ist nur in Lösung beständig und zersetzt sich beim Eindampfen.

Von verschiedenen Forschern (**11**) wurde geprüft, ob das Eisen in seinen physiologischen Wirkungen durch andere verwandte Metalle, besonders Mangan, Nickel, Kobalt ersetzbar sei. Jedoch wurde übereinstimmend gefunden, daß dies nicht der Fall ist. Mn vermag Chlorose nicht zu heilen, sondern wirkt antagonistisch und hebt die Wirkungen dargereichten Eisens auf (**12**). Auch WOLFF (**13**) fand keine Möglichkeit das Eisen durch $NiSO_4$

---

1) A. THOMSON, Beihefte Bot. Zentr. (1893), p. 496. — **2**) Vgl. SACHSSE, Agr. Chemie (1888), p. 505. — **3**) GILE u. CARRERO, Journ. Agr. Res., *7*, 503 (1916). — **4**) M. J. SIDORINE, Moskau 1914, ref. Bot. Zentr., *137*, 264. — **5**) MONNIER u. KUCZYNSKI, Compt. rend. soc. phys. Genève, *33*, 50 (1916). — **6**) J. KÖNIG, Landw. Jahrb., *12*, 837. — **7**) A. B. GRIFFITHS, Journ. Chem. Soc., *47*, 46 (1885); (1883), I, 195; (1886), I, 114. — **8**) O. KELLNER, Landw. Vers.stat., *32*, 365 (1886). F. BRACCI u. A. SUCCI, Just (1888), I, 22; P. PICHARD, Compt. rend., *112*, 1455 (1891). — **9**) Vgl. hierzu z. B. O. v. CZADEK, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *7*, 65 (1904). — **10**) W. VAUBEL, Chem.-Ztg., *37*, 737 (1913). — **11**) SACHS, Exp. Physiologie (1865), p. 144; BIRNER u. LUCANUS, Landw. Vers.stat., *8*, 140 (1866); WAGNER, Ebenda, *13*, 72 (1871). RISSE, zit. bei SACHS, l. c. KNOP, Kreislauf des Stoffes (1868), p. 614. G. SPAMPANI, Just (1891), I, 27. — **12**) Vgl. TOTTINGHAM, u. BECK, Plant World, *19*, 359 (1916). PUGLIESE, Reale Ist. Imoraggiamento Napoli (6), *10* (1913). — **13**) J. WOLFF, Compt. rend., *157*, 1022 (1913).

oder Kaliumchromat zu ersetzen. Dies macht die mancherseits vermutete Rolle des Eisens als Katalysator nicht recht wahrscheinlich (1); höchstens könnte ein beschränkter Wirkungskreis von Katalysen in Frage kommen.

In der Asche unterschiedlicher Pflanzenorgane läßt sich Eisen mit Leichtigkeit mit den Fe-Ionen-Reagentien nachweisen, nicht aber, wie Molisch (l. c. 1892) eingehend dargelgt hat, in frischen Geweben. Die Methode, welche dieser Forscher zum Nachweise des „maskierten“ Eisens einschlug (längere Behandlung mit konzentrierter Ätzlauge und nachherige Anstellung der Berlinerblau-Probe mit Ferrocyanid), ist nicht empfehlenswert, weil minimale Eisenspuren aus der Lauge durch die Gewebe stark aufgenommen werden. Ebenso ist die Benutzung von reinster HCl und Kaliumferrocyanid nach Quincke (2) nur mit Vorsicht anzuwenden, da das Ferrocyanid bei HCl-Einwirkung selbst Berlinerblau liefert. Am geeignetsten dürfte zum mikrochemischen Eisennachweis die Überführung in Eisensulfid durch gelbes Schwefelammonium sein, eventuell nach vorheriger Behandlung mit Bunges salzsaurem Alkohol (90 Teile 95%igem Alkohol + 10 Teile 25%iger HCl) bei 55°: Macallum (3), Quincke. Daß sich, wie Griffiths angab, bei reichlicher Darbietung von Ferrosulfat in den Zellen Kristalle von Eisenvitriol finden können, ist wohl sicher eine Täuschung gewesen. Über die im Pflanzenorganismus vorkommenden organischen Eisenverbindungen ist sehr wenig bekannt. Petit (4) berichtete über eisenhältige Nucleinpräparate, die er aus Gerstenkörnern dargestellt hatte. Dieselben sollen durch die Wurzeln resorbierbar sein und sollen günstig auf das Wachstum einwirken. Auch Suzuki (5) gelang es angeblich mit verdünntem Alkali aus Samen und Blättern eine durch verdünnte Essigsäure fällbare nucleinartige Substanz zu gewinnen, welche die Hauptmenge des Gesamt-Fe enthielt. Bestätigt sind jedoch alle diese eisenhaltigen Nucleinsubstanzen nicht. Das von Stoklasa (6) aus Zwiebeln erhaltene, mit dem Hämatogen von Bunge verglichene Präparat konnte Suzuki nicht darstellen. In den mit Äther, Alkohol oder Wasser hergestellten Organextrakten fand Suzuki kein Eisen. Gola (7) berichtete über Eisenverbindungen, die er aus Pflanzenmaterial (Sägemehl von Tanne und Pappel und grüne Kräuter) durch Extraktion mit 0,3% NaOH und Fällung auf Essigsäurezusatz erhielt. Darin soll Fe in fester organischer Bindung enthalten sein. Extraktion mit 95% Alkohol mit 3% HCl lieferte ein pyridinlösliches Präparat, sehr reich an Fe, welches mit Hämatin verglichen wurde.

Das reichliche Vorkommen von Eisenverbindungen in den Fruchtschalen von Trapa natans, welches Gorup-Besanez (8) zuerst beobachtete, sowie andere Befunde hohen Eisengehaltes in manchen Organen höherer Pflanzen wurde bereits verschiedentlich erwähnt. Mangan und Tonerde sind fast in jeder Bodenart verbreitete Substanzen, welche in kleiner Menge fast immer zur Resorption durch die Wurzeln kommen müssen. Bertrand (9) hat das Vorkommen von Mangan übersichtlich behandelt. Ebenso Jadin und Astruc (10), welche angaben, daß bei Pappelblättern 17,46 mg, bei

1) J. Penkawa, Bot. Zentr., *125*, 344 (1914). — 2) H. Quincke, Arch. exp. Pathol., *37*, 183 (1896). — 3) A. B. Macallum, Quart. Journ. Micr. Sci., *38*, 175 (1895). Auch E. Meyer, Ergebn. d. Physiol., *5*, 698 (1906). — 4) P. Petit, Compt. rend., *117*, 1105 (1894). — 5) U. Suzuki, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *4*, 260 (1901). — 6) Stoklasa, Compt. rend., *127*, 282 (1898). — 7) G. Gola, Atti Acc. Linc. (5), *24*, I, 1239 u. II, 289 (1915). — 8) E. v. Gorup-Besanez, Lieb. Ann., *100*, 106 (1856). In neuerer Zeit besonders M. Soave, Annali Real. Accad. Agricolt. Torino, *48* (1905). — 9) G. Bertrand, Rev. gén. Chim. pure et appl. (7), *8*, 205 (1905). — 10) F. Jadin u. A. Astruc, Journ. Pharm. et Chim. (7), *7*, 85 u. 155 (1913). Compt. rend., *159*, 268 (1914).

Wiesengras 16,93 mg Mn_3O_4 auf 100 g Trockensubstanz das Maximum des Gehaltes bilden. Die systematische Verwandtschaft spielt beim Mangangehalt keine Rolle. CARLES (1) fand Mn im Mehl, Wein und anderen Nahrungsmitteln. BERTRAND und MEDIGRECEANU (2) konstatierten Mangan im Blut und in den Organen verschiedener Tiergruppen, bei Säugetieren am wenigsten. Nach BRADLEY (3) sind Süßwassermuscheln sehr reich an Mangan. Somit dürfte PICHARD (4) im Recht sein, wenn er behauptete, daß Mangan allenthalben im Pflanzen- und Tierreich in kleinen Mengen verbreitet sei. Schon die älteren Forscher, besonders FÜRST ZU SALM-HORSTMAR (5), befaßten sich mit der Frage, ob Mangan und Tonerde bei der Ernährung der Pflanzen durch die Bestandteile des Bodens eine Rolle spielen. Durch die Wasserkulturmethode wurde später gefunden, daß sowohl Al- als Mn-Verbindungen entbehrlich sind; wir wissen derzeit noch von keinem Falle, in welchem solche Verbindungen unbedingt in das Getriebe des Stoffwechsels eingreifen müßten.

Von Interesse ist die schon in älterer Zeit bekannte Wirkung von Alaun und tonerdehaltigen Bodenarten auf die Erzeugung blauer Blüten bei Hydrangea hortensis, welche MOLISCH (6) bestätigt hat. Obwohl von löslichen Al-Verbindungen nur Kalialaun und Aluminiumsulfat untersucht wurden, so darf man wohl annehmen, daß diese Wirkung vom Al-Ion abhängt — wenn nicht der ganze Effekt von beigemengten Eisenspuren oder Eisenumsetzungen im Boden herrührt. Eisensalze haben dieselbe Wirkung. Für Mn, Ni, Co ließ sich dieser Einfluß auf die Blütenfarbe nicht nachweisen. MOLISCH nahm an, daß es sich um die Bildung von blauen Anthocyaninverbindungen handle. Jedenfalls gelingt es in Schnitten Bläuung des roten Blütenfarbstoffes durch Al- und Fe-Salze in ähnlicher Weise hervorzurufen. Näher bestimmt ist die Art dieser Reaktion noch nicht. Möglich, daß es sich um Bildung schwerlöslicher Al- und Fe-Phosphate im anthocyanin- und alkaliphosphathaltigen Zellsaft handelt, wobei alkalische Reaktion eintreten kann. Mit allen Anthocyaninen scheint der Versuch nach MOLISCH aber nicht zu gelingen. STOKLASA (7) hat auf Grund seiner Erfahrungen über die Verbreitung der Tonerde in Pflanzenaschen behauptet, daß Xerophyten kleineren Al-Gehalt zeigen als Hygrophyten. Auch die Empfindlichkeit gegen toxische Einflüsse durch Al-Salze soll verschieden sein. Die Giftwirkung löslicher Al-Salze auf Oryza findet sich bei MIYAKE (8) näher studiert. Andererseits will MAZÉ (9) Al für die Entwicklung von Mais als nötig ansehen. Die übrigen Angaben hinsichtlich etwaiger Funktionen des Al in der Pflanze fassen übereinstimmend dessen Rolle als Wachstumsstimulans ins Auge (10). Auch für das Mangan wird eine solche Bedeutung angenommen (11). Dazu kommen Erwägungen, inwieweit Mn als Oxydationskatalysator in Betracht zu ziehen ist (12). BERNARDINI (13) dachte an eine Adsorptionsverdrängung von K, Na, Ca und Mg im Boden durch Mangan. Die mehrfach beobachteten Wirkungen des Mangans,

1) P. CARLES, Ann. Chim. anal. appl., *17*, 411 (1912). — 2) G. BERTRAND u. F. MEDIGRECEANU, Compt. rend., *154*, 941, 1450; *155*, 82 (1912). — 3) H. C. BRADLEY, Journ. biol. Chem., *3*, 151 (1907); *8*, 237 (1910). — 4) P. PICHARD, Compt. rend., *126*, 1882 (1898). — 5) SALM-HORSTMAR, Journ. prakt. Chem., *40*, 302 (1847). A. ADERHOLDT, Lieb. Ann., *82*, 111 (1852). — 6) H. MOLISCH, Bot. Ztg. (1897), I, 49. Hier die ältere Literatur über den Gegenstand. WL. ROTHERT, Ebenda, *64*, I, 43 (1906). — 7) J. STOKLASA, Biochem. Ztsch., *88*, 292 (1918); *91*, 137 (1918). — 8) K. MIYAKE, Journ. Biol. Chem., *25*, 23 (1917). — 9) P. MAZÉ, Compt. rend., *160*, 211 (1915). — 10) J. STOKLASA, Compt. rend., *152*, 1340 (1911). Y. JAMANO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *6*, 429 (1905). W. ROTHERT, l. c. (1906). — 11) STOKLASA, l. c.; Kritik: EHRENBERG u. SCHULTZE, Journ. f. Landw., *64*, 37 (1916). — 12) Vgl. PUGLIESE, R. Ist. d' Imoraggiamento Napoli (6), *10*, 1913. — 13) L. BERNARDINI, Staz. Sper. Agr., *43*, 217 (1910).

Chlorose hervorzurufen, können, wie schon erwähnt, gleichfalls kaum anders gedeutet werden, als daß ein „Antagonismus" der Mn- und Fe-Ionen unter Immobilisierung der letzteren mitspielt (**1**). Das Pflanzenwachstum soll auf manganreichem Boden nach SHEDD tatsächlich gesteigert sein (**2**).

Die Tonerde- und Manganverbindungen des Bodens sind im ganzen sehr wenig lösliche Stoffe und deshalb kann hiervon gewöhnlich nicht viel zur Aufnahme in die Pflanzen gelangen. Doch kann selbst in terrestrischen Gewässern nach JADIN und ASTRUC (**3**) so viel lösliches Mn vorhanden sein, aus vulkanischem Gestein stammend, daß es Pflanzen leicht zugänglich ist. Aufnahme von Mangan durch die Wurzeln von Keimlingen hat ACQUA (**4**) untersucht; man kann hierbei 0,5—3$^0/_{00}$ Lösungen ohne Schaden anwenden. Den Folgerungen dieses Forschers, daß Mn-Abscheidungen in den Geweben den Ort des Verbrauches des Anions von Manganonitrat anzeigen, ist allerdings nicht ohne weiteres beizupflichten (**5**). JADIN und ASTRUC (**6**) fanden in allen Organen der Pflanzen Mangangehalt, doch in den grünen oberirdischen Teilen mehr als in den unterirdischen. Bei Lupinus albus (Mitte Juni in voller Entwicklung) fand PASSERINI (**7**) in den Blättern 8,96, in älteren Hülsen 5,1, Stengelgrund 3,3, im oberen Stengelteil 3,0, im Samen 1,58 Aschenprozente an Mangan. Zahlreiche Analysenergebnisse über Mn- und Al-Gehalt der verschiedenartigsten Pflanzenorgane finden sich in WOLFFS Aschenanalysen zusammengestellt, auf welche verwiesen werden kann, ebenso in vorausgehenden Kapiteln dieses Buches. Dort wurde bereits dargelegt, daß der Tonerdegehalt bei einzelnen Gewächsen, wie bei Symplocos- oder Lycopodiumarten, ein relativ sehr hoher ist. Die Verbreitung von Al ist bei ROTHERT (**8**) kritisch behandelt, ebenso findet man bei KRATZMANN (**9**) revidierte Angaben. In Lycopodium fanden PELLET und FRIBOURG (**10**) 9,9 Aschenprozente an Tonerde. Zuckerrohr und Rübe enthalten denselben Autoren zufolge (**11**) nur 0,03—0,05%. In der Regel ist nicht über 0,5% der Reinasche an Tonerde vorhanden. Die Aluminiumbestimmung in Pflanzenaschen berücksichtigen ferner ausführlicher YOSHIDA, COUNCLER und RICCIARDI (**12**). Nach BERTHELOT und ANDRÉ (**13**) pflegen Wurzeln mehr Tonerde zu enthalten als Blätter. Auffallend viel Al_2O_3 fand H. SMITH (**14**) im Stamme der australischen Proteacee Orites excelsa R. Br., deren Holz-

---

1) Hierzu TOTTINGHAM u. BECK, Plant World, *19*, 359 (1916). JOHNSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *9*, 47 (1917). Auf Manganböden wäre Heilung der Chlorose durch vermehrte Fe-Zufuhr möglich. — **2**) O. M. SHEDD, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 660 (1914). Giftwirkungen durch Mn: G. SALOMONE, Staz. Sper. Agr. Ital., *38*, 1015 (1906). Mangandüngung: G. D'IPPOLITO, Staz. Sper. Agr. Ital., *47*, 621 (1914); ULBRICH, Blätt. f. Zuckerrüb.anbau, *24*, 31 (1917). Vgl. auch Bd. I, p. 183. — **3**) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *157*, 338 (1914). Mn-Bestimmung in Wasser: J. TILLMANNS u. H. MILDNER, Journ. f. Gasbeleucht., *57*, 496 (1914). Mn in Kentucky-Böden: SHEDD, l. c., Bestimmung im Boden: B. v. HORVÁTH, Ztsch. analyt. Chem., *53*, 581 (1914). Lösl. Mn im Boden und dessen Aufnahme durch Pflanzen. P. DE SORNAY, The internat. Sugar Journ. for Planters, *14*, 648 (1913). — **4**) C. ACQUA, Acc. Linc. Roma, (5), *19*, I, 339 (1910); Annali di Bot., *11*, 467 (1913). — **5**) Vgl. E. BOSELLI, Ebenda, *11*, 459 (1913); D'IPPOLITO e A. PUGLIESE, Staz. Sper. Agr. Ital., *47*, 231 (1914). — **6**) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *155*, 406 (1912). **7**) N. PASSERINI, Boll. Soc. Bot. Ital. (1904), p. 148. — **8**) WL. ROTHERT, Bot. Ztg., *64*, I, 43 (1906). — **9**) E. KRATZMANN, Pharm. Post, *47*, 101 (1914); Sitz.ber. Wien. Ak., I, *123*, 221 (1914). — **10**) PELLET u. FRIBOURG, Ann. Sci. agron. (3), *2*, 323 (1907). — **11**) H. PELLET u. C. FRIBOURG, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *23*, 71 (1905). Über Verbreitung in tierischen Organen (Vogelfedern): GONNERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *102*, 78 (1918). — **12**) H. YOSHIDA, Journ. Chem. Soc. (1887), I, 748; COUNCLER, Bot. Zentr., *40*, 97 (1889); L. RICCIARDI, Gazz. chim. ital., *19*, 150 (1890); R. GAZE, Apoth.-Ztg., *5*, 9 (1890). — **13**) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *120*, 288 (1895). — **14**) H. G. SMITH, Chem. News, *88*, 135 (1903).

asche 36—79,6% Al_2O_3 enthält. Es handelt sich hier um Ablagerung von basisch bernsteinsaurem Aluminium. Andere Proteaceen führen keine großen Al-Mengen.

Mangan findet sich im Boden viel spärlicher als Tonerde. Trotzdem zeigen viele der erwähnten Befunde hohen Mn-Gehalt der Pflanzenaschen. In der Asche liegt meist Manganphosphat vor. Werden solche Mn-haltige Aschen zuerst mit Wasser und dann mit phosphorsäurehaltiger HNO_3 ausgelaugt, so verbleibt ein violetter Rückstand: nach CAMPANI (1) eine recht empfindliche Manganprobe. Von Angaben über Mn-Vorkommen seien noch erwähnt diejenigen von LIPPMANN (2), Zuckerrübenasche betreffend; die Analysen von COUNCLER (3), die Untersuchungen von MAUMENÉ (4), welche für Getreide einen Gehalt von $^1/_{5000}$ bis $^1/_{15000}$ Mn an organische Säuren gebunden ergaben, ferner einen sehr hohen Gehalt der Tabakasche an Mn, Mn-Vorkommen in Tee, Kaffee usw.; jene von FLÜCKIGER (5) über reichliches Manganvorkommen bei Strychnos Ignatii Berg.; über Mangan bei Vitis vinifera von CAMPANI (6) und COMBONI (7). Nach FLÜCKIGER (8) sind auch die Zingiberaceen sehr manganreiche Pflanzen, und für Trapa natans hat schon GORUP BESANEZ den reichlichen Mn-Gehalt der Fruchtschalen aufgefunden, was FLÜCKIGER für andere Trapaarten bestätigte.

In welchen Verbindungen Aluminium und Mangan im Pflanzenorganismus vorkommen, ist durchaus unbekannt.

Nickel sowie Kobalt sind viel giftiger als Eisen und Mangan und wurden nur in sehr seltenen Fällen; im Eichenholze durch FORCHHAMMER (9), Kobalt auch bei australischen Proteaceen von SMITH, in pflanzlichen Geweben als aus dem Boden durch die Wurzeln aufgenommene Mineralsubstanzen nachgewiesen. Desto häufiger und verbreiteter kommen Spuren von Kupfer vor. Schon den älteren Chemikern, wie MEISSNER, DUFLOS und SARZEAU (10) war das häufige Vorkommen kleiner Kupfermengen in verschiedenartigen Pflanzenorganen bekannt. Nach VEDRÖDI (11) pflegen gewöhnliche Acker- und Gartenböden meist 0,06—0,08% CuO zu enthalten; die Pflanzen enthalten zum Teil mehr. VEDRÖDI fand im Eichenholze 0,06%, Eichenblättern 0,02%, Quercusfrüchten 0,04% CuO; Getreidearten enthielten 0,11—0,35 % CuO; Buchweizen 0,87%; Faba 0,38%; Mais 0,06 bis 0,39% CuO. In Capsicumfrüchten wurden 0,4% Cu gefunden. LEHMANN (12) konstatierte bei Pflanzen auf kupferhaltigem Boden, einem Steinbruch, wo 1 kg Boden 2,71—3,94 g Kupfer enthielt, bei Thymus Serpyllum pro Kilogramm Pflanzentrockensubstanz 187,5 und 223 mg Cu, Taraxacum officinale 320 mg, Galium Mollugo: Stengel mit Blättern 83,3 mg und Wurzel 200 mg Cu; Viola hirta: Blätter 160,7 mg, Wurzelstock mit Wurzeln 327,3 mg, Stengel 560 mg Cu; Festuca ovina 395 mg CuO. Wir nehmen also mit unserer Pflanzennahrung stets Kupferspuren auf, und wenn man die Cu-Mengen

1) G. CAMPANI, Ber. chem. Ges., *10*, 82 (1877). Über eine weitere Methode vgl. J. GÖSSL, Beihefte Bot. Zentr., *18*, I, 121 (1904). — 2) E. O. v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 3492 (1888); *30*, 3037 (1897). — 3) COUNCLER, Bot. Zentr., *40*, 97 (1889). — 4) E. MAUMENÉ, Journ. Pharm. et Chim. (5), *10*, 229 (1884). Compt. rend., *98*, 1056 u. 1416 (1884). — 5) FLÜCKIGER, Arch. Pharm. (1889), p. 145. — 6) G. CAMPANI, Gazz. chim. ital., *14*, 515 (1884). — 7) E. COMBONI, Just (1888), I, 25; RICCIARDI, l. c. — 8) FLÜCKIGER, Pharm. Journ., *16*, 621 (1885). — 9) FORCHHAMMER, Lieb. Ann., *95*, 86 (1855). — 10) W. MEISSNER, Schweigg. Journ., *17*, 340, 436 (1816); PHILLIPS, Ann. Chim. et Phys. (2), *19*, 76 (1821); DUFLOS u. SARZEAU, Ebenda (2), *44*, 334 (1830). — 11) V. VEDRÖDI, Chem.-Ztg., *17*, 1932 (1894); *20*, 399 (1896); MAQUENNE u. DEMOUSSY, Compt. rend. *169*, 937 (1919). — 12) K. B. LEHMANN, Arch. Hyg., *24*, 1 (1895); *27*, 1 (1896); TSCHIRCH, Das Kupfer (1893).

aus Geschirren usw. mitberücksichtigt, so kann man nach LEHMANN die tägliche Cu-Zufuhr mit etwa 150—200 mg Cu veranschlagen. Cicer arietinum enthält nach PASSERINI (1) 0,82% Cu; DUCLAUX (2) fand in Cacaosamen im Nährgewebe 0,0021—0,004% Kupfer, in den Samenschalen 0,0035—0,0250%. RUTHERFORD (3) fand zahlreiche Proben von Samen der Strychnos nux vomica kupferhaltig. BATEMANN und WELLS (4) geben für Pflanzen von Cu-Böden 0,0046—0,621% Cu an; die Rinde wurde kupferreicher als andere Teile gefunden. Gewisse Arten passen sich an Cu-Böden nicht an. Bei Quercus macrocarpa beträgt nach den von MAC DOUGAL (5) mitgeteilten Analysen FRANKFORTERs der Cu-Gehalt des Holzes 500 mg im Kilo Substanz. Nach MAC DOUGAL soll sich hier und da in Holzzellen, Gefäßen und Markparenchymzellen fein verteiltes metallisches Kupfer finden. Die Caryophyllacee Polycarpaea spirostylis soll nach SKERTCHLY geradezu ein Indikator für kupferreichen Boden sein. Nach HECKEL (6) soll die Samenschale von Odyendea gabunensis (Pierre) Engl. [Quassia gabunensis] sogar 0,698% Cu in ihrer Asche enthalten, obwohl dieser Baum nicht auf kupferreichem Boden wächst. Nach MENDEL und BRADLEY (7) würden tierische Organe den Cu-Gehalt von Pflanzen weitaus übertreffen können, da die Leber der Molluske Sycotypus nicht weniger als 8% der Asche an Cu enthalten soll.

Die Bestimmung der kleinen Kupfermengen wurde von LEHMANN auf colorimetrischem, von VEDRÖDI (8) auf gewichtsanalytischem Wege vorgenommen; die letztere verdient wohl den Vorzug, obwohl man Gefahr läuft, auch andere Stoffe mit dem Cu mitzuwägen (9). Als empfindliche qualitative Kupferproben wurden angegeben die Blaufärbung kupferhaltiger Lösungen beim Stehen mit überschüssigem Ammoniak und etwas Phenol oder etwas Resorcin [JAWOROWSKI (10)]; ferner die Aloinreaktion welche nach BEITTER (11) noch in einer Verdünnung einer $CuSO_4$-Lösung von 1:100,000 deutlich auftritt.

LEHMANN vermutet, daß im Organismus Kupfereiweißverbindungen vorkommen; doch ist Näheres über die Cu-Verbindungen in Pflanzen nicht bekannt. Kupfersalze wirken als Wachstumsreiz; es ist aber bei Mais nach HASELHOFF (12) schon 5 mg $CuSO_4$ auf 1 l Nährlösung deutlich toxisch; bei Bohne erzeugt die doppelte Konzentration Blattflecken.

Kein seltenes Vorkommnis bildet ferner ein ziemlich reicher Gehalt an Zink in der Asche von Pflanzen auf zinkreichem (Galmei-)Boden, was schon lange bekannt ist. RISSE (13) fand bei dem auf Galmeiboden bei Aachen wachsenden Thlaspi alpestre in der Asche der Wurzel 1,66%, des Stengels 3,28% und der Blätter sogar 13,12% Zinkoxyd. Später wiesen LECHARTIER und BELLAMY (14) Spuren von Zink auch in Weizenkörnern, amerikanischem Mais, Gerste, Wicke, Bohnen nach, während der Nachweis bei Beta, Maisstengeln, Trifolium mißlang. In Molinia altissima vom Galmei-

---

1) N. PASSERINI, Just (1891), I, 29. — 2) DUCLAUX, Bull. Soc. Chim. (1872), p. 33. — 3) H. J. RUTHERFORD, Pharm. Journ. (4), Nr. 1661, p. 343 (1902). — 4) BATEMAN u. WELLS, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 811 (1916). — 5) MAC DOUGAL, Bot. Gaz., *27*, 68 (1899). Ferner: A. MAC GILL, Chem. Abstr. (1910), p. 625. — 6) E. HECKEL, Bull. Soc. Bot., *46*, 42 (1899). — 7) L. B. MENDEL u. H. C. BRADLEY, Amer. Journ. Physiol., *14*, 313 (1905). Verteilung des Cu in tierischen Organismen: S. YAGI, Arch. internat. Pharm., *20*, 51 (1910). — 8) VEDRÖDI, Chem.-Ztg., *20*, 584 (1896). — 9) Hierzu H. PAUL u. COWNLEY, Chem. Zentr. (1896), II, 564. — 10) A. JAWOROWSKI, Ebenda (1896), I, p. 770. — 11) A. BEITTER, Ber. pharm. Ges., *10*, 411 (1900). — 12) E. HASELHOFF, Landw. Jahrb., *21*, 263 (1892). — 13) RISSE, zit. in SACHS, Exp. Physiologie (1865), p. 153. Auch E. FRICKE, Chem. Zentr. (1900), II, 769. — 14) LECHARTIER u. F. BELLAMY, Compt. rend., *84*, 687 (1877).

boden bei Raibl in Kärnten fand HATTENSAUR (1) 0,265% der Asche an Zink. Die oberschlesische Galmeiflora wurde in neuerer Zeit durch JENSCH (2) und LABAND (3) untersucht. JENSCH erhielt für Tussilago Farfara und Polygonum aviculare recht hohe Werte für den Gehalt der Asche an kohlensaurem Zink:

	Tussilago			Polygonum		
	Blattstiele	Spreiten	Wurzeln	Wurzeln	Stengel	Blätter
von Halde I	2,51%	1,75%	2,90%	1,77%	2,25%	1,24%
von Halde II	3,26%	1,63%	2,83%	1,93%	2,86%	1,49%

Galmeipflanzen enthalten in allen Organen Zink und entfalten dabei üppiges Wachstum (4).

Da nach BAUMANN (5) schon 1—5 mg $ZnSO_4$ im Liter den Grenzwert der toxischen Wirkung darstellen und auch STORP und KÖNIG (6), sowie NOBBE, BAESSLER und WILL (7) die Zinksalze sehr toxisch fanden (schädlicher als Blei), so müssen bei Galmeipflanzen bestimmte Verhältnisse obwalten, durch welche schädliche Zinksalzkonzentrationen in der Zelle verhütet werden. Die merkwürdige Beobachtung von STORP, wonach $ZnSO_4$ auf Gräser im Dunklen fast gar nicht schädlich einwirkt, während es bei belichteten Keimlingen sehr heftige toxische Effekte entfaltet, bleibt näher zu verfolgen.

Die Verbreitung von Zink in Spuren ist nach JAVILLIER (8) im Pflanzenreiche sehr groß; nach diesen Untersuchungen zeichnen sich die Coniferen durch hohen Zinkgehalt aus. WEITZEL (9) bestimmte den Zinkgehalt verschiedener Lebensmittel und Tierorgane. Es enthielten pro 1 kg Substanz in Milligramm Zink: Rindsleber 86, Fleisch 26—49, Ei 10, Kartoffel 2, Brot 7, Wasser 2 und Hirn 6 mg Zn.

Sehr kleine Konzentrationen von Zinksalzen wirken vielleicht allgemein als Wachstumsreiz, doch nach JAVILLIER in spezifisch verschiedenem Grade. Bei Vegetationsversuchen wird man den Einfluß von aus Zink angefertigten Kulturgefäßen nicht ganz unbeachtet lassen (10). Früher waren gewisse formative Reizerfolge der Zinkaufnahme in einigen auf Galmeiboden vorkommenden Standortsvarietäten erblickt worden, z. B. bei Viola lutea f. calaminaria, was aber nach HOFFMANN (11) nicht berechtigt ist.

Auch Blei ist mehrfach als natürlich vorkommender Pflanzenbestandteil nachgewiesen. In Molinia altissima von bleihaltigem Boden zu Raibl in Kärnten fand HATTENSAUR 2,041% Pb in der Gesamtasche. Bezüglich Aufnahme von Bleiverbindungen durch Wurzeln sind Angaben von PHILIPPS, NOBBE, KNOP (12) und anderen Forschern vorhanden. Minimale Quecksilbermengen wurden als seltenes Vorkommnis in Pflanzen ange-

1) G. HATTENSAUR, Sitz.ber. Wien. Ak., *99*, IIb, 29 (1890). — 2) ED. JENSCH, Ztsch. angew. Chem. (1894), p. 14. Chem. Zentr. (1894), I, 281. — 3) L. LABAND, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mitt., *4*, 489 (1901). — 4) U. CAPPA, Österr. Ztg. Berg.-Hütt., *53*, 479 (1905). — 5) A. BAUMANN, Landw. Vers.stat., *31*, 1 (1884). — 6) F. STORP, Landw. Jahrb. (1883), p. 795. — 7) NOBBE, BAESSLER u. WILL, Landw. Vers.stat., *30*, 381 (1884). — 8) M. JAVILLIER, Bull. Sci. Pharm., *15*, 559 (1908); Ann. Inst. Pasteur (1908), p. 720. Rech. sur la présence et le rôle du zinc. Lons le Saunier (1908). — 9) A. WEITZEL, Zentr. Physiol., *28*, 766 (1914). Bezüglich Zinkvorkommen in tierischen Zellen vgl. DELEZENNE, Ann. Inst. Pasteur, *23*, 68 (1919). E. ROST u. WEITZEL, Arb. Reichsgesundh.amt, *51*, 494 (1919). ROST, Umschau *24*, 201 (1920). GHIGLIOTTO, Ann. de Falsif. *12*, 12 (1919). — 10) Vgl. P. EHRENBERG, Landw. Vers.stat., *72*, 15 (1910). — 11) H. HOFFMANN, Bot. Ztg. (1875), p. 628. — 12) PHILIPPS, Bot. Zentr., *13*, 364 (1883); NOBBE, BAESSLER, Landw. Vers.stat., *30*, 416 (1884); KNOP, Ber. Sächs. Ges. (1885), p. 51.

geben (**1**). Nachgewiesen ist ferner Thallium: BÖTTGER, KNOP (**2**). Titan, welches ADERHOLDT schon 1852 in Pflanzen aufgefunden hatte, scheint nach WAIT (**3**) nicht selten als Pflanzenbestandteil vorzukommen. Dieser Autor fand an TiO_2 in der Asche von Eichenholz 0,31%; Apfel- und Birnbaumholz 0,21%; in Äpfeln 0,11%; in Faba 0,01%; Gossypiumsamen 0,02%. Hinsichtlich der Untersuchungsmethoden auf Titan in Pflanzenasche und Böden sei auf Angaben von PELLET und FRIBOURG (**4**) verwiesen. Für Uran- und Chromverbindungen untersuchte KNOP (l. c. 1885) die Möglichkeit der Resorption durch die Wurzeln von Mais in Wasserkultur, ohne eine Aufnahme dieser Substanzen konstatieren zu können. Hingegen gibt COUPIN (**5**) an, daß chromsaure Salze und Dichromate auf keimende Gräser toxische Wirkungen entfalten. Zinngehalt wies FORCHHAMMER bei einigen Holzarten nach. Vanadium ist nach LIPPMANN (**6**) mitunter in nicht unerheblicher Menge in der Schlempekohle der Rübenzuckerfabrikation zu finden. DEMARÇAY (**7**) wies spektralanalytisch Spuren von Vanadium, Molybdän und Chrom in der Asche von Picea, Abies, Quercus, Populus, Carpinus und Vitis nach. Hinsichtlich der Untersuchungsmethoden für Aufnahme und Abscheidung von Radiumemanation, die hier fernerliegen, verweise ich auf eine Arbeit von KOHLRAUSCH und PLATE (**8**).

IV. Phosphorsäure und Arsen. Die Wichtigkeit und Unentbehrlichkeit einer hinreichenden Versorgung der Pflanzen mit Phosphorsäure, und die außerordentliche Bedeutung der diesbezüglichen Resorptionstätigkeit der Wurzeln wird schon durch die ältesten Erfahrungen auf dem Gebiete der Mineralstoffphysiologie eindringlich gezeigt. Ohne Phosphorsäurezusatz angesäte Keimlinge sterben nach kurzer Entwicklungszeit ab, nachdem ihr PO_4-Vorrat im Samennährgewebe aufgebraucht ist (**9**). Setzt man einer Wasserkultur das gewöhnlich als PO_4-Nahrung dargereichte KH_2PO_4 zu und bestimmt die Acidität der Lösung, so kann man selbst bei Verwendung junger Pflanzen bereits nach 24 Stunden einen erheblichen Rückgang im Säuretiter beobachten durch Verbrauch des sauren Phosphates. In Topfkulturen mit gewaschenem Glassand als Substrat sahen PFEIFFER und SIMMERMACHER (**10**) 83,8% des dargebotenen N und 71,4% der dargebotenen PO_4 zur Produktion von Pflanzensubstanz verwendet. Die Orthophosphorsäure läßt sich durch keine der sauerstoffärmeren Säuren des Phosphors ersetzen (**11**). Wenn Metaphosphorsäure und Pyrophosphate wirksam sind (**12**), so sind sie es nur im Wege des Überganges in Orthophosphorsäure durch Wasseraufnahme. Da die Angabe von STOKLASA (**13**) über die angebliche Resorption von Glycerophosphorsäure und Lecithin

---

1) GORUP BESANEZ, Lieb. Ann., *127*, 248 (1864). — **2**) BÖTTGER, Jahresber. Agr. Chem. (1864), p. 99; KNOP, l. c. (1885), p. 50. — **3**) CH. E. WAIT, Journ. Amer. Chem. Soc., *18*, 402 (1896). CH. BASKERVILLE, Ebenda, *21*, 1099 (1899). — **4**) H. PELLET u. C. FRIBOURG, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *23*, 67 (1905). — **5**) H. COUPIN, Compt. rend., *127*, 977 (1898). — **6**) E. v. LIPPMANN, Ber. chem. Ges., *21*, 3492 (1888). — **7**) EUG. DEMARÇAY, Compt. rend., *130*, 91 (1900). — **8**) F. L. KOHLRAUSCH u. E. PLATE, Biochem. Ztsch., *20*, 22 (1909). Über tierische Eizellen unter dem Einfluß von Radiumbestrahlung: VAN HERWERDEN, Ned. Tijdschr. Geneesk., *2*, 838 (1918). Lit. ferner Bd. I, 189. — **9**) Eine umfassende Behandlung des Umsatzes und der Rolle der Phosphorverbindungen in den Pflanzen (leider nur in russischer Sprache) gab W. ZALESKI (Charkow 1912). — **10**) PFEIFFER u. SIMMERMACHER, Landw. Vers.stat., *88*, 445 (1916). Vgl. auch MODESTOV, Landw. Ztg. Petersburg (1917) Nr. 8, p. 174. — **11**) Vgl. VILLE, Compt. rend., *53*, 822 (1861); KNOP, Ber. v. landw. Inst. Leipzig (1881), p. 31, 51. — **12**) Hierzu auch B. ARNOLDI, PRIANISCHNIKOW, VIII. Ber. Laborat.Vers. 1911—12. Moskau 1913, p. 252 für Sandkulturen von Fagopyrum und Avena. — **13**) J. STOKLASA, Sitz.ber. Wien. Ak., *104*, I, 712 (1895).

durch Phanerogamenwurzeln durch SCHULOW (1) nicht bestätigt werden konnte, so dürften einschlägige positive Befünde auf bacteriell-fermentativer Abspaltung von Orthophosphorsäure beruhen. SCHULOW, welcher höhere Pflanzen in bacterienfreier Kultur untersuchte, konnte hingegen für Phytin-PO_4 Aufnahme durch die Wurzeln von Pisum feststellen. Die Aufnahme von PO_4 (und NO_3) soll nach SCHREINER und SKINNER (2) durch Chinonbeigabe zum Boden gehemmt werden; hingegen beseitigt PO_4-Zusatz die hemmende Wirkung des Cumarins auf die Kaliaufnahme. Die nächstliegende Annahme, daß es sich dabei um Adsorptionserscheinungen handelt, ist nicht geprüft worden. Im Boden finden die Pflanzenwurzeln die Phosphorsäure zum größten Teile in Form schwerlöslicher Salze vor: Calcium-, Eisen-, Aluminiumphosphate, vielleicht auch Calciumcarbonophosphate (3); zum geringeren Teile als leichter lösliche Salze. Wie meist angenommen wird (4), setzen sich die Kalkphosphate, in den Boden gebracht, mit der Zeit in Eisen- und Tonerdephosphate um. Es ist sogar behauptet worden, daß diese sehr schwer löslichen Phosphate auf das Gedeihen der Pflanzen die beste Wirkung entfalten, was G. VON DER CRONE (5) durch Wasserkulturversuche zu beweisen dachte. STOKLASA (6) nahm die von den Bodenbakterien erzeugte Kohlensäure als wesentliches Agens für die Löslichmachung solcher Phosphate in Anspruch. PRIANISCHNIKOW (7) machte darauf aufmerksam, daß selbst Aluminiumphosphat durch Pflanzen ausnutzbar ist, obwohl seine Löslichkeit durch CO_2-Gehalt des Wassers sogar herabgesetzt ist. Dabei dürften aber doch organische Säuren bacterieller Entstehung die Lösungsvorgänge wesentlich beschleunigen, vielleicht auch organische Säuren, welche von den Wurzeln produziert werden. Mindestens als generelle Behauptung ist es aber nicht erwiesen, daß die schwer löslichen, speziell die Eisenphosphate die wichtigsten PO_4-Quellen des Bodens darstellen. Wie SCHLOESING (8), der Methoden zur Bestimmung der löslichen und unlöslichen Anteile der Phosphorsäure im Ackerboden ausgearbeitet hat, zeigte, ist die Menge dieser Anteile die Resultante in einem komplizierten chemischen Gleichgewichte. Man kann auch, wie zu erwarten, durch Extraktion mit verschieden stark angesäuertem Wasser einige Fraktionen von PO_4 erhalten, wobei die Ca- und Mg-Phosphate die leichter löslichen, die Fe-Phosphate die schwerer löslichen

---

1) Iw. SCHULOW, Ber. Dtsch. bot. Ges., *31*, 97 (1913). Für Lecithin und Nuclein negative Befunde auch bei K. ASO u. T. YOSHIDA, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 153 (1909). Über die verschiedenen Bindungsformen der PO_4 vgl. FEIGL, Biochem. Ztsch., *92*, 1 (1918). — 2) O. SCHREINER u. J. SKINNER, U. S. Dept. Agr. Bur. of Soils Bull. Nr. 97 (1911). — 3) Vgl. A. BARILLÉ, Compt. rend., *148*, 344 (1909). Phosphatlöslichkeit und Nutzung: PFEIFFER, SIMMERMACHER u. RATHMANN, Landw. Vers.stat., *87*, 191 (1915); *89*, 203 (1916); MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *49*, 661 (1916). — 4) J. LEWITZKY, Just (1874), II, 867; EMMERLING, Landw. Vers.stat., *52*, 60 (1900). Über Unlöslichwerden der Phosphate im Boden vgl. SKALKIJ (1918), ref. Chem. Zentr. 1918, II, 216. — 5) G. VON DER CRONE, Dissert. Bonn (1904). — 6) J. STOKLASA, Der Kreislauf des Phosphat-Ions im Boden. Jena 1911. Zentr. Bakt., II, *29*, 385 (1911). — 7) D. PRIANISCHNIKOW, Landw. Vers.stat., *75*, 357 (1911). — 8) TH. SCHLOESING, f., Compt. rend., *127*, 236, 327 (1898); *128*, 1004 (1899). F. K. CAMERON u. A. SEIDELL u. J. M. BELL, Chem. Zentr. (1906), I, 528. A. D. HALL u. A. AMOS, Proc. Chem. Soc., *22*, 11 (1906). PO_4-Absorption im Boden: O. SCHREINER u. G. H. FAILYER, Journ. physic. Chem., *10*, 239, 361 (1906). Phosphorhuminsäuren: J. DUMONT, Compt. rend., *143*, 186 (1906). A. VON 'SIGMOND, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *10*, 581 (1907); Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 929 (1907). A. PETIT, Compt. rend., *152*, 1317 (1911); H. E. PATTEN, Journ. physic. Chem., *15*, 639 (1911); S. G. ROSTWOROSKI u. G. WIEGNER, Journ. f. Landw., *60*, 223 (1912). Phosphorbedarf des Bodens: S. HERKE, Zentr. Bakt., *44*, 413 (1914). JAKUSCHKIN (1915), ref. Bot. Zentr., *132*, 573. PO_4 in granitischen Böden: VINCENT, Compt. rend., *164*, 409 (1917).

Anteile darzustellen scheinen. Theoretisch richtig ist es auch, daß Gegenwart von Ammoniumsalzen starker Säuren, wie $(NH_4)_2SO_4$ durch stärkere Adsorption des $NH_4^{\cdot}$ im Boden an saure Kolloide, und stärkere Aufnahme durch die Pflanzenwurzeln als „physiologisch saure Salze“ die Mobilisierung der PO_4 fördern sollten. MITSCHERLICH (**1**) wies diesen Effekt innerhalb enger Grenzen praktisch nach. Obwohl ferner auch die Pflanzenwurzeln, wie § 4 näher darlegen wird, über ausreichende Mittel verfügen, um sich selbst die schwerstlöslichen Phosphate zugänglich zu machen, so spielen doch, wie SCHLOESINGS Studien (**2**) beweisen, die löslichen Phosphate eine außerordentlich wichtige Rolle bei der Versorgung der Pflanzen mit PO_4. Ein Hektar Boden kann nach SCHLOESING 130—140 kg leichtlösliche H_3PO_4 enthalten, was an sich für eine größere Zahl von Ernten ausreicht. Aber die löslichen Phosphate werden auch in dem Maße als sie verbraucht werden, auf Kosten der schwerlöslichen wieder ersetzt. Man kann den Unterschied im Gehalte an leichtlöslichem Phosphat bei bebauten und unbebauten Böden leicht nachweisen; die Menge an leichtlöslicher PO_4 ist auf kultiviertem Boden auf ein viel tieferes Niveau herabgedrückt. Läßt man Proben aus kultiviertem Boden einige Monate lang in feuchtem Zustande ohne Pflanzenwuchs liegen, so kann man eine erhebliche Zunahme an wasserlöslicher PO_4 nachweisen. Unstreitig sind hierbei die chemischen Faktoren zur Herstellung des neuen Gleichgewichtes von erheblicher Wirkung. Doch darf die biologische Tätigkeit der Bodenorganismen nicht außer Acht gelassen werden. Wenig beachtet sind die im Boden vorhandenen organischen PO_4-Verbindungen. ASO (**3**) hält die Hauptmenge des organisch gebundenen P im Boden für Nuclein-P. Es ist nicht unmöglich, daß die Aufschließungswirkungen, welche beim Sterilisieren (Dämpfen) von Erde entfaltet werden, organischen P (Nuclein, Phosphatide) von Tieren und Pflanzen des Bodens betreffen, welcher nach der Abspaltung von PO_4 günstige Wirkungen hat (**4**). Phytin wird aus dem Boden nach mehrfachen Beobachtungen direkt aufgenommen (**5**) und ebensogut verarbeitet wie anorganisches Phosphat; vielleicht auch sofort gespalten. BALICKA-IWANOWSKA (**6**) erklärte Phytin für das erste Produkt der Umwandlung in organischen Phosphor.

Wie es bei anderen Nährstoffen der Fall ist, so macht auch der Bedarf an Phosphorsäure während des Vegetationsganges einen bestimmten Kurvengang durch. BERTHELOT und ANDRÉ (**7**) haben dargelegt, daß die Quantität der aus dem Boden in einem bestimmten Zeitabschnitte resorbierten Phosphorsäure bis zur Blütezeit zunimmt. Dann wird aber die Phosphorsäure-

---

1) E. MITSCHERLICH u. W. SIMMERMACHER, Landw. Vers.stat., *79—80*, 71 (1913); auch A. DROGOS, Kosmos (Lemberg), *38*, 1323 (1913) PRIANISCHNIKOW, Ber. bot. Ges., *23*, 8 (1905). Landw. Vers.stat., *65*, 23 (1906). — **2**) SCHLOESING, Compt. rend., *132*, 1189 (1901); *134*, 53 u. 1383 (1902). F. K. CAMERON u. A. SEIDELL, Journ. Amer. Chem. Soc., *27*, 1503 (1905); K. BUCH, Ztsch. anorg. Chem., *52*, 325 (1907); A. QUARTAROLI, Staz. Sper. Agr. Ital., *42*, 121 (1908). — **3**) ASO, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *6*, 277 (1904). — **4**) Vgl. H. FISCHER, Zentr. Bakt. II, *22*, 671 (1909). E. COPPENRATH, J. HASENBÄUMER u. J. KÖNIG, Landw. Vers.stat., *46*, 401 (1907). COPPENRATH, Dissert. Münster (1907. A. KOCH u. G. LÜKEN, Journ. f. Landw., *55*, 161 (1907). Über schädliche Wirkungen nach Bodensterilisation (durch saure Stoffe?): C. SCHULZE, Landw. Vers.stat., *65*, 137 (1906). Toxische Produkte aus anderen Pflanzen im Boden: O. SCHREINER u. H. S. REED, U. S. Dept. Agr. Bur. of Soils, Bull. Nr. 40 (1907). — **5**) K. ASO u. T. YOSHIDA, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 153 (1909). J. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *31*, 97 (1913). Phytinspaltendes Ferment tierischer Gewebe: E. V. MC COLLUM u. E. B. HART, Journ. biol. Chem., *4*, 497 (1908). — **6**) G. BALICKA-IWANOWSKA, Anzeig. Akad. Krakau (1906), p. 616. — **7**) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *106*, 711 (1888).

aufnahme gering, während Trockensubstanzzunahme, Aufnahme von Kali noch weiterhin kräftige Fortsetzung erfahren (Amarantus caudatus). STOKLASA (1) berechnet, daß die Zuckerrübe in 60—70 Tagen im ganzen 46,81 g Phosphorsäure aufnimmt, d. i. etwa die 10000-fache Menge des im Samen vorhanden gewesenen Phosphorsäurevorrates; nach 110-tägiger Vegetationszeit hat sich die aufgenommene Phosphorsäurequantität neuerlich verdoppelt. Bis zur Blütezeit findet IWANOWSKA (2) bei Hordeum den Umsatz der aufgenommenen PO_4 in organischen Phosphor relativ gering; zur Zeit der Samenbildung nimmt er sehr stark zu. Die Aufnahme der PO_4 geht nach SEIDLER (3) aber gleichfalls nicht immer parallel zur Trockensubstanzbildung. Im ersten Jahre bietet nach MÜNTZ und GAUDECHON (4) bei mehrjährigen Kulturpflanzen Darbietung von Calciummonophosphat namhaften Vorteil, später nicht mehr.

Über Ausfallserscheinungen nach Entziehung von PO_4 bei Pflanzen ist nicht viel bisher bekannt. REED (5) hält PO_4 nötig für die Kohlenhydratbildung. KOSSOWITSCH (6) führte die Kleemüdigkeit des Bodens auf Mangel an leicht zu assimilierender PO_4 (und Kali) zurück.

Da mit der Ernte, besonders bei Körnerfrüchten, den Kulturen sehr erhebliche PO_4-Quantitäten für immer entzogen werden, bildet die Frage des Wiederersatzes der Phosphorsäure eines der wichtigsten Probleme der Landwirtschaft. Die wissenschaftliche Seite der Frage ist weit davon entfernt, einen befriedigenden Stand erreicht zu haben, und die zahlreichen Widersprüche in Theorie und Praxis zeigen, wie verwickelte Verhältnisse hier vorliegen. Sollen lösliche oder unlösliche Phosphate angewendet werden? Daß Darbietung leichter löslicher Phosphate Vorteile hat, war a priori wahrscheinlich und auf dieser Basis ruht die Fabrikation und Anwendung der unterschiedlichen, aus schwerlöslichen Phosphaten durch Säureaufschließung erhaltenen Präparate [Superphosphate (7)], sowie die Bewertung der Phosphorsäuredünger des Handels nach dem Gehalte an „citratlöslicher Phosphorsäure", welcher nach der auf den Vorschlägen P. WAGNERS beruhenden Vereinbarung mittels Ammoniumcitrat bestimmt wird (8). Das Aufschließen kann ähnlich mit 2% Citronensäure geschehen, nach MITSCHERLICH (9) mit CO_2 gesättigtem Wasser, oder durch 5stündiges Dämpfen bei 5 Atmosphären (10). Unter Umständen kann aber der praktische Vorteil wieder auf der Anwendung schwerlöslicher Phosphate liegen, und so haben

---

1) J. STOKLASA, Chem. Zentr. (1897), I, 1128. — 2) G. B. IWANOWSKA, Anzeig. Akad. Krakau, l. c. — 3) L. SEIDLER, Landw. Vers.stat., *79/80*, 563 (1913). — 4) MÜNTZ u. GAUDECHON, Ann. Sci. agron. (4), *1*, 200 (1912). — 5) H. S. REED, Ann. of Bot., *21*, 501 (1907). — 6) P. KOSSOWITSCH, Russ. Journ. exp. Landwirtsch., *6*, 567 (1905). — Acidität des Bodens und Mangel an ausnutzbarer PO_4: A. R. WHITSON u. C. W. STODDART, Journ. Amer. Chem. Soc., *29*, 757 (1907). STODDART, Journ. Ind. Eng. Chem., *1*, 69 (1909). — 7) Über Verringerung des Kalkgehaltes durch Superphosphatdüngung und Säureschädigung bei Kulturpflanzen: SPIECKERMANN, Landw. Ztg. f. Westfalen 1918, p. 255. — 8) Über die Methode z. B. J. KÖNIG, Untersuch. landw. wicht. Stoffe, 2. Aufl., p. 161 (1898). Superphosphate: J. STOKLASA, Chem. u. physiol. Studien über Superphosphate, Berlin 1896. Über PO_4-Bestimmung im Boden: A. PAGNOUL, Ann. agron., *24*, 649 (1900). Fällung freier H_3PO_4 in CO_2-haltigen gesättigten Calciumbicarbonatlösungen als Tricalciumphosphat: TH. SCHLOESING, Compt. rend., *131*, 211 (1900). Löslichkeit der Phosphate: F. K. CAMERON u. L. A. HURST, Journ. Amer. Chem. Soc., *26*, 885 (1904). — Anwendung von 0,2 norm. HCl: W. P. KELLEY, Journ. Ind. Eng. Chem., *2*, 277 (1910); 0,2 norm. HNO_3: G. S. FRAPS, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 823 (1906). — 9) E. A. MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *36*, 309 (1907). — 10) E. COPPENRATH, HASENBÄUMER u. KÖNIG, Landw. Vers.stat., *46*, 401 (1907).

es DAFERT und REITMAIR (1) direkt in Abrede gestellt, daß hochcitratlösliche Thomasschlacke besser wirke als niedrigcitratlösliche. Jedenfalls spielt dabei der Ort, wo die PO_4 sich ansammelt, eine wichtige Rolle. Geschieht dies in der Nähe der Wurzeln, so wirkt das Phosphat ausgezeichnet; sammelt es sich von den Wurzeln entfernt an, so muß die Wirkung in jedem Falle geringer sein. Das Phosphat kann tiefer oder minder tief in den Boden eindringen, bevor ein Gleichgewichtszustand mit den Bodenbestandteilen hergestellt ist; selbst in der obersten Bodenschicht kann es bereits zurückgehalten werden (2). Andererseits hat man in der auf lange Zeit verteilten und nachhaltigen Wirkung schwerlöslicher Phosphate, wie Thomasschlacke, tatsächlich nicht selten praktische Vorteile erzielen können. In analoger Weise ist es wohl auch verständlich, wie Anwendung grobkörnigen und sehr fein pulverisierten Phosphatmateriales unter verschiedenen Verhältnissen günstigere Wirkungen entfalten kann (3). Noch mehr Aufgaben, die zum Teil hervorragende praktische Bedeutung besitzen, stellen sich uns in der Beurteilung, wie die gleichzeitig stattfindende Zufuhr anderer Pflanzennährstoffe den Nutzen der Phosphatdüngung beeinflußt. Bereits BOUSSINGAULT (4) befaßte sich mit den Beziehungen, welche zwischen Stickstoffnahrung und Phosphatdarreichung bestehen, ein Thema, das später viel studiert worden ist, ohne bisher zu einem vollkommenen Abschlusse gekommen zu sein. Nach den Erfahrungen von LIEBSCHER und von GODLEWSKI (5) kann der Ertrag von Kartoffeln durch Überschuß an assimilierbarer PO_4 sogar deprimiert werden. Nach GODLEWSKI soll das Verhältnis $N:P_2O_5$ im Boden für Kartoffel nicht enger als 100:50 sein. Gerste und Roggen haben sowohl für N als für PO_4 ein stärkeres Bedürfnis als Kartoffel. Jedenfalls wird aber die reichlich dargebotene Phosphorsäure, sobald der Stickstoffvorrat unter ein bestimmtes Minimum sinkt, nicht mehr zu einer Mehrproduktion in der Ernte ausgenützt. Bei GODLEWSKI finden sich ferner die Wechselbeziehungen zwischen Kalidüngung und PO_4-Düngung für Kartoffel, Roggen und Gerste näher erläutert. Aber auch das Verhältnis der

---

1) DAFERT u. O. REITMAIR, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *3*, 589 (1900). — 2) J. T. CRAWLEY, Journ. Amer. Chem. Soc., *24*, 1114 (1902). Wirkung löslicher und unlöslicher Phosphate u. a.: EMMERLING, Biedermanns Zentr.bl. (1880), p. 718. — 3) Vgl. P. WAGNER, Journ. f. Landw. (1883), p. 255. — Neuere Lit. über Phosphordünger: CLAUSEN, Journ. f. Landw., *53*. 213 (1905); A. QUARTAROLI, Staz. Sper. Agr. Ital., *38*, 639 (1905); W. SCHNEIDEWIND, D. MEYER u. H. FRESE, Landw. Jahrb., *35*, 927 (1906); S. DE GRAZIA, Staz. Sper. Agr. Ital., *40*, 54 (1907); S. UCHIYAMA, Bull. Imp. Centr. Agr. Ex. Sta. Japan, *1*, 105 (1908); H. G. SÖDERBAUM, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *11*, 506; Landw. Vers.stat., *48*, 433 (1908). S. TSUDA, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, 167 (1909). R. MITSUTA, Ebenda, p. 163. TAKEUCHI, Ebenda, p. 203. G. LEONCINI, Staz. Agr. Sper. Ital., *45*, 55 (1912); A. QUARTAROLI, Ebenda, *38*, 83 (1904); W. SIMMERMACHER, Landw. Vers.stat., *77*, 441 (1912); H. WILFARTH, RÖMER u. WIMMER, Ztsch. Ver. dtsch. Zuck.Ind. (1912), p. 1037; W. E. TOTTINGHAM u. C. HOFFMAN, Journ. Ind. Eng. Chem., *5*, 199 (1913); P. E. GALTSEW u. JAKUSCHIN, Ann. Inst. Agron. Moscou, *19*, 193 (1914); TH. PFEIFFER u. E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *84*, 93 (1914). Gerste: SCHÜL, Landw. Jahrb., *45*, 646 (1913). Rübe: SAZANOFF, ref. Bot. Zentr., *132*, 576 (1915). Mineralphosphate: BURLISON, Journ. Agr. Res., *6*, 485 (1916). Rhenania-Phosphat: REMY, Landw. Jahrb., *49*, 685 (1916). Säurelösl. von Mineralphosphat: AITA, Ann. di chim. appl., *7*, 200 (1917). WAGGAMAN u. WAGNER, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 442 (1918). Calciumtetraphosphat: HITIER (1918), ref. chem. Zentr. 1919, I, 254. — 4) J. BOUSSINGAULT, Agronomie, *1*, 207; 3. éd. (1886). — 5) E. GODLEWSKI, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr. (1901). LIEBSCHER, zit. ebenda. Nach G. ANDRÉ, Compt. rend., *142*, 902 (1906) ist zwischen N und PO_4 im Safte von Mesembryanthemum crystallinum von einer gewissen Zeit an eine auffallend konstante Relation zu beobachten.

PO_4-Quantität zum vorhandenen Kalk vermag Einfluß zu nehmen, ohne daß, wie die Diskussionen von KELLNER und BÖTTCHER (1) und DAFERT (2) gezeigt haben, der Erfolg der PO_4-Düngung sich bei gleichzeitiger Kalkdarreichung immer in Form eines Erntemehrertrages zeigen müßte. Alle diese Probleme sind kaum über die summarische Feststellung der praktischen Feldversuche und deren Ergebnisse hinausgelangt. Wie bei wiederholten Anlässen dargelegt wurde, spielt die Phosphorsäure im Organismus sowohl als PO_4-Ion, als auch in Form wichtiger Kohlenstoffverbindungen: Glycerophosphorsäure resp. Lecithin, Phytin, Nucleine und Nucleoalbumine, bei den verschiedenartigsten Vorgängen des pflanzlichen Stoffwechsels eine bedeutungsvolle Rolle. Da die Pflanzen nach vielen Erfahrungen selbst die geringsten Phosphorsäuremengen aufzunehmen und zu verwenden wissen so kann man schwer beurteilen, welche Zellfunktionen auch bei mangelnder PO_4-Zufuhr wenigstens eine Zeit hindurch ungestört fortdauern können. Deswegen ist die von O. LOEW (3) geäußerte Meinung, daß in der Zelle Eiweißsynthese sogar bei Abwesenheit von PO_4 stattfinden könne, mit Vorbehalt hinzunehmen. Man hat dem Calciumphosphat in der Pflanze mannigfache Bedeutung für den Stofftransport zugedacht, weil organische Doppelphosphate, Phytin, der Phosphorgehalt der Stärkekörner, ferner die Löslichkeit von phosphorsaurem Kalk in zuckerhaltigen Säften, sowie die Löslichkeit von Globulinen und Nucleoalbuminen in phosphathaltigen Säften in Betracht gezogen werden können. So verwertete VAUDIN (4) das gleichzeitige Vorkommen von Äpfelsäure, das Auftreten von Zucker bei der Stärkelösung für eine Theorie der Wanderung des Calciumphosphates in der Pflanze. HANSEN (5) beleuchtete die Bedeutung der Phosphate für die Erhaltung des gelösten Zustandes von Eiweißstoffen. Von landwirtschaftlicher Seite (6) wurde auf die Förderung der Ausbildung der Stützgewebe, also von Membransubstanz unter dem Einflusse der Phosphatdüngung, aufmerksam gemacht.

Für den tierischen Organismus kann anorganische Phosphorsäure nachweislich ebensogut zum Aufbau der organischen PO_4-Verbindungen dienen, wie dies bei der Pflanze der Fall ist (7).

Zum Nachweise der anorganischen PO_4 in pflanzlichen Geweben dient die bereits von PFEFFER (8) mikrochemisch angewendete Magnesiamischung: ammoniakalische Lösung von $MgSO_4$ und NH_4Cl. Nach den Nachprüfungen von IWANOFF (9) entsteht der charakteristische krystallinische Niederschlag von $MgNH_4PO_4$ auch bei Gegenwart ganz geringer Mengen anorganischer Phosphate. Aus organischen PO_4-Verbindungen wird der typische Tripelphosphatniederschlag nicht erhalten. Nucleoalbumine und Vitelline liefern nur eine amorphe körnige Fällung (10). Hingegen ist die bekannte Molybdatreaktion auch für organisch gebundene PO_4 verwendbar. Man wendete

---

1) O. KELLNER u. O. BÖTTCHER, Dtsch. landw. Presse, *27*, Nr. 52 (1900). KELLNER, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *4*, 124 (1901). — 2) F. W. DAFERT, Ebenda, p. 96, 128 (1901). PETERMANN, Mém. Ac. Roy. Belg. (1889). — 3) O. LOEW, Biol. Zentr., *11*, 269 (1891). — 4) L. VAUDIN, Compt. rend., *121*, 362 (1895); Ann. Inst. Pasteur, *16*, 85 (1902). — 5) A. HANSEN, Flora (1889), p. 408. Arb. bot. Inst. Würzburg, *3*, 92 (1884). — 6) D. LIENAU u. A. STUTZER, Landw. Vers.stat., *65*, 253 (1906). P. VAGELER, Journ. Landw., *55*, 193 (1907). — 7) Vgl. G. FINGERLING, Biochem. Ztsch., *38*, 448 (1912). Tiere reagieren bei Entziehungsversuchen am empfindlichsten auf Ca und PO_4. Vgl. OSBORNE u. MENDEL, Journ. Biol. Chem., *34*, 131 (1918). J. LOEB, Ebenda, *23*, 431 (1915). — 8) W. PFEFFER, Jahrb. wiss. Bot., *8*, 465 (1872). — 9) L. IWANOFF, Jahrb. wiss. Bot., *36*, 355 (1901). — 10) IWANOFF, l. c.; MORACZEWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *21*, 71 (1895); *25*, 252 (1898).

dieselbe entweder in der von A. HANSEN (1) angegebenen Form an, oder in den Modifikationen von LILIENFELD-MONTI (2) und POLLACCI (3), welche darin bestehen, daß man den Molybdänniederschlag mit Pyrogallol oder Zinnchlorür reduziert; die entstehende Blaufärbung ist besonders leicht mikroskopisch kenntlich. Diese Methoden werden jedoch sehr dadurch beeinträchtigt, daß das kolloide Molybdän durch Adsorption auch an Stellen festgehalten wird, wo ursprünglich kein PO_4-Niederschlag lag. IWANOFF sowie POLLACCI haben zahlreiche Angaben über Lokalisation der Phosphate und der organisch gebundenen PO_4 in pflanzlichen Geweben geliefert.

Spuren von Arsen werden wohl in den meisten Fällen von den Wurzeln aus dem Ackerboden zur Resorption kommen. Zum Nachweise dieser Tatsache waren die Untersuchungen von GAUTIER (4) von grundlegender Bedeutung. Diesem Forscher gelang es durch genaue und kritische Methoden sicher zu zeigen, daß Arsen als normaler Bestandteil einer Anzahl tierischer Organe (Schilddrüse, Haare, Federn, Haut, Knochen) anzusehen ist, daß ferner As im Meerwasser, in marinen Algen, aber auch in Süßwasseralgen vorkommt. Höchstwahrscheinlich stammt das Arsen des Erdbodens, des Meeres und der Pflanzen aus dem Urgestein. 100 g Granit von Vire (Bretagne) enthielt 0,06 mg Arsen. Das Vorkommen von Arsen in Boden, Pflanzen, Früchten und Tieren untersuchte sodann HEADDEN (5). Er fand in 1 Million Teilen: jungfräulichem Boden von Colorado 2,5—5, Mergel 4—13. ZUCCARI (6) sieht As als nahezu normalen Bodenbestandteil an; es scheint sich meist an Eisen zu binden. Die Verbreitung von As im Pflanzenreiche untersuchten besonders JADIN und ASTRUC (7). Die Höchstgehalte waren bei Avena 0,062 mg und bei Zuckerrübe 0,061 mg auf 100 g Trockensubstanz. Viscum enthielt, auf verschiedenen Bäumen schmarotzend, stets ungefähr dieselbe Menge Arsen und richtete sich nicht nach dem As-Gehalte des Substrates (8). Bei der Zuckerrübe verfolgte REMMLER (9) die Arsenaufnahme und fand, daß eine solche bei Zufuhr von Schweinfurtergrün möglich ist; jedoch nicht bei Applikation des Arsenits auf die Blätter, sondern nur durch die Wurzeln.

Quellen des Arsens finden die Pflanzen ferner, wie STOKLASA (10) gezeigt hat, in vielen Düngemitteln, besonders in den Superphosphaten, welche bis zu 0,3% As enthalten können. Toxische Wirkungen kommen

---

1) A. HANSEN, Arbeiten bot. Inst. Würzburg, *3*, 96 (1885). HIGHLEY, Just (1881), I, 386; C. REICHARD, Chem.-Ztg., *27*, 833 (1903). — 2) LILIENFELD u. MONTI, Ztsch. physiol. Chem., *17*, 410 (1893); Bot. Ztg. (1893), II, 245 (Krit. Ref.); A. B. MACALLUM, Proc. Roy. Soc., *63*, 467 (1898). — 3) G. POLLACCI, Malpighia, *8*, 361 (1894); *4*, 19; Ztsch. wiss. Mikr., *18*, 111 (1900). Chem. Zentr. (1895), II, 230; Atti Ist. Bot. Pavia, *10*, 16 (1904). A. ARCANGELI, Atti Soc. Toscan. Sci. nat.; *18*, (1902). — 4) A. GAUTIER, Compt. rend.. *130*, 286; *131*, 161 (1900); *129*, 189 (1899); Ztsch. physiol. Chem., *36*, 391 (1902); Compt. rend., *134*, 1394; *135*, 812 u. 1115 (1902); *137*, 295 (1903). GAUTIER u. P. CLAUSMANN, Ebenda, *139*, 101 (1904); Chem. Zentr. (1904), II, 1745. F. GARRIGON, Compt. rend , *135*, 1113 (1902). G. BERTRAND, *134*, 1434 (1902); *135*, 809; M. SEGALE, Ztsch. physiol. Chem., *42*, 175 (1904); HÖDLMOSER, Ebenda, *33*, 329 und K. CERNY, Ebenda, *34*, 408 (1901) haben, wahrscheinlich nicht genügend genaue Methoden anwendend, GAUTIERS Resultate nur teilweise bestätigt. GAUTIER, Compt. rend., *170*, 261 (1920). — 5) W. P. HEADDEN, Proc. Colorado Sci. Soc. (1910), p. 345. J. E. GREAVES, Biochem. Bull., *2*, 519 (1913). — 6) G. ZUCCARI, Gazz. chim. ital., *43*, II, 398 (1913). — 7) JADIN u. ASTRUC, Journ. Pharm. et Chim. (7), *6*, 529 (1912); Compt. rend., *159*, 268 (1914). — 8) F. JADIN u. A. ASTRUC, Compt. rend., *155*, 291 (1912); Journ. Pharm. et Chim. (7), *6*, 529 (1912). — 9) H. REMMLER, Chem.-Ztg., *35*, 977 (1911). — 10) J. STOKLASA, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr. (1898), p. 154. Auch S. H. COLLINS, Chem. Zentr. (1902), I, 1022 über As-Gehalt der Gerste.

bei Pflanzen hierdurch nicht zustande, doch ist As nach MAZÉ (1) entschieden schädlich, und keineswegs zu jenen Elementen zu rechnen, bei denen spurenweise Aufnahme nützlich oder nötig ist. Toxikologisch scheint die As-Wirkung überall dieselbe zu sein, auch bei den aromatischen As-Verbindungen (2).

Die Verbreitung und den Nachweis von Arsen in tierischen Organismen hat ferner BLOEMENDAL (3) behandelt. HEFFTER (4) bestätigte die Anhäufung von As in den Haaren; das Arsen dürfte im Organismus an Nuclein gebunden sein, für die Bindung an Glycerin nach Art der Glycerophosphorsäure ergaben sich keine Anhaltspunkte.

Die Giftwirkungen des Arsens, welche bereits CHATIN (5) näher experimentell studierte, sind sehr erheblich, und nach NOBBE (6) vermag schon 1 mg arsenige Säure im Liter toxische Wirkungen auf das Wurzelsystem von Wasserkulturpflanzen auszuüben. GAUTIER und BERTRAND (7) haben die altbekannte, 1836 von JOHN MARSH angegebene Methode zum Nachweise von As so verfeinert, daß man damit nach 0,001 mg As_2O_3 nachweisen kann. Es werden 100 g des Untersuchungsmateriales in einer Porzellanschale durch Erhitzen mit einer Mischung aus 4 g H_2SO_4 und 40 g HNO_3 zerstört und die Einwirkung der HNO_3 in der Hitze so lange fortgesetzt, bis völlige Verkohlung eingetreten ist. Die Kohle wird fein verrieben mit Wasser ausgelaugt und der wässerige Auszug 3 Stunden lang mit H_2S behandelt. Der entstandene Niederschlag darf, in NH_3 gelöst, keine intensiv braune Farbe zeigen. Er wird in bekannter Weise im MARSH-Apparat behandelt, wobei zu beachten ist, daß die Luft im Apparate völlig sauerstofffrei sein muß.

Daß die Meinung von BOUILHAC (8), wonach Phosphorsäure durch Arsensäure vertreten werden kann, unbegründet ist, wurde schon erwähnt; dies haben MOLISCH (9) sowie STOKLASA experimentell erwiesen.

V. Schwefel, Selen, Tellur. Mit der Tatsache, daß Schwefel ein nie fehlender Grundstoff in der Substanz pflanzlicher Organismen ist, wurde man erst langsam und spät vertraut (10) und noch länger währte es, bis man sich klar wurde, woher die Pflanzen ihren Schwefelgehalt beziehen (11). Es war erst LIEBIG (12), der mit voller Bestimmtheit die schwefelsauren Salze im Boden als die Quelle des S-Gehaltes der Gewächse ansprach, indem diese, im Wasser gelöst, durch die Wurzeln aus dem Boden aufgenommen werden. Durch die Wasserkulturstudien wurde es späterhin vollständig klar, daß eine Darreichung von Schwefelverbindungen, und zwar von Sulfaten, für das normale Gedeihen der Pflanzen unerläßlich ist. Doch hat auch heute die Kenntnis vom Schwefelstoffwechsel der Pflanzen noch viele Lücken.

Soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, sind Sulfate, also das Ion SO_4, unstreitig die beste Form von Schwefelverbindungen zur Ernährung von Blütenpflanzen, und in der natürlichen S-Aufnahme durch die Wurzeln

---

1) MAZÉ, Compt. rend., *160*, 211 (1915). — 2) Vgl. SIEBURG, Ztsch. physiol. Chem., *97*, 53 (1916). — 3) W. H. BLOEMENDAL, Arch. Pharm., *246*, 599 (1908). — 4) A. HEFFTER, Arch. internat. Pharm. Thér., *15*, 399 (1905). — 5) A. CHATIN, Compt. rend., *20*, 21 (1845). — 6) F. NOBBE, BAESSLER u. WILL, Landw. Vers.stat., *30*, 381 (1884). O. LOEW, Pflüg. Arch., *32*, 111 (1884). — 7) A. GAUTIER, Compt. rend., *129*, 936 (1900); Bull. Soc. Chim. (3), *29*, 639 (1903); G. BERTRAND, Ann. Inst. Pasteur, *16*, 553 (1902); G. LOCKEMANN, Ztsch. angew. Chem., *18*, 416 u. 491 (1905); MAI u. HURT, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mitt. (1905), p. 193; KUNKEL, Ztsch. physiol. Chem., *44*, 511 (1905). — 8) BOUILHAC, Compt. rend., *119*, 929 (1894). — 9) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *105*, I, 642 (1896). — 10) Vgl. z. B. die Arbeiten von PLANCHE, Schweigg. Journ., *36*, 280 (1822). PLEISCHL, Ebenda, *43*, 491 (1825). — 11) So ist noch A. VOGEL, Journ. prakt. Chem., *25*, 209 (1842) diesbezüglich unklar. — 12) J. LIEBIG, Die Chemie in ihrer Anwendung usw., 7. Aufl., *1*, 87 (1862).

kommt wohl kaum eine andere S-Verbindung dem SO_4'' an Bedeutung gleich, da SO_4''-Ionen allenthalben den Landphanerogamen in genügender Konzentration zur Verfügung stehen. PETERSON (1), von dem die eingehendsten Untersuchungen über die Schwefelaufnahme höherer Pflanzen aus neuerer Zeit stammen, fand, daß bei Darreichung größerer Sulfatmengen im Boden der Schwefelgehalt der Gewebe vermehrt wird.

Während für Pilze auch einzelne andere Sauerstoffverbindungen dienlich sind, wie die Anionen der Thioschwefelsäure, der schwefligen Säure, scheint für höhere Pflanzen die Schwefelsäure kaum ersetzbar zu sein (2). Calciumsulfit ist nach FITTBOGEN (3) für Phanerogamen schädlich. Auch Rhodanammonium erwies sich bei Wasserkulturen von Hafer und Gerste abträglich (4). Das letztgenannte Salz ist nach STRACKE (5) auch für Cruciferen schädlich. Die organischen Sulfosäuren, Ätherschwefelsäuren sind hinsichtlich ihrer Tauglichkeit noch nicht hinreichend untersucht (6). Für die Isäthionsäure $C_2H_5 \cdot O \cdot HSO_3$ und ihre Aminosäure, das Taurin: $CH_2NH_2 \cdot CH_2 \cdot O \cdot HSO_3$ ist Aufnahme durch die Wurzeln und Nährtauglichkeit erwiesen. Voraussichtlich ist dasselbe auch der Fall bei Thioaminosäuren, wie Cystein, was noch zu prüfen bleibt.

An Sinapis alba, Avena, Urtica und einigen anderen Pflanzen haben BERTHELOT und ANDRÉ (7) die Intensität der S-Aufnahme aus dem Boden während des Vegetationsganges verfolgt. Es nahm die S-Quantität bis zur Blütezeit ziemlich gleichen Schrittes zu.

Erwünscht wäre es, an der Hand chemisch-analytischer und mikrochemischer Studien ein Bild von Verteilung und Vorkommen des Sulfat-Ions und der verschiedenen organischen Schwefelverbindungen zu erhalten. Nach SCHIMPER (8) kann man mitunter in lebenden Geweben (Crambe maritima) mit Herstellung von Kalium-Nickelsulfat das SO_4'' nachweisen; auch sollen Strontium-, selbst Barytsalze zum SO_4-Nachweis verwendbar sein. GOLA (9) deutete die rotviolette Reaktion, welche er mit alkalischer Nitroprussidnatriumlösung in vielen Meristemen, Wurzel- und Sproßspitzen erhielt, als die von MÖRNER (10) angegebene Cysteinreaktion. Diese Probe ist allerdings nicht für Cystein allein charakteristisch, doch erhielt GOLA auch andere auf Cystein beziehbare Reaktionen.

Die Vermutung von CAMERON (11), daß das Selen einigermaßen den Schwefel im pflanzlichen Stoffwechsel ersetzen kann, ist durch keine Tatsache begründet. Schwache Gaben von Seleniten und Telluriten sind un-

---

1) W. H. PETERSON, Journ. Am. Chem. Soc. *36*, 1290 (1914), Kreislauf des Schwefels auf der Erde: P. KOSSOWITSCH, Russ. Journ. exp. Landw., *14*, 181 (1913). — 2) Vgl. BIRNER u. LUCANUS, Landw. Vers.stat., *8*, 152 (1866). KNOP, Ber. landw. Inst. Leipzig (1881), p. 31 u. 51; SACHSSE, Agrik.chemie (1888), p. 451. HART u. TOTTINGHAM, Journ. Agr. Res., *5*, 233 (1915). THALAU, Landw. Vers.stat., *82*, 161 (1913). Für Klee: TOTTINGHAM, Journ. biol. Chem., *36*, 429 (1918). SHERBAKOFF (1915), ref. Bot. Zentr., *131*, 320. — Über die Umwandlung von Schwefel im Boden, die dabei in Betracht kommenden mikrobischen und chemischen Faktoren: vgl. KAPPEN u. QUENSELL, Landw. Vers.stat., *86*, 1 (1915). BROWN u. KELLOGG, Journ. Biol. Chem., *21*, 73 (1915). LINT, Journ. Ind. Eng. Chem., *6*, 747 (1914). Ferner: PFEIFFER, SIMMERMACHER u. SPANGENBERG, Fühlings landw. Ztg. (1916), p. 194; PITZ, Journ. Agr. Res., *5*, 771 (1916); THÖRNER, Ztsch. angew. Chem. *29*, 233 (1916). — 3) FITTBOGEN, Landw. Jahrb., *13*, 755 (1884). — 4) KLIEN, Schrift. phys.ök. Ges. Königsberg, *26*, 34 (1885). J. KÖNIG, Just (1884), p. 57. SACHSSE, l. c., p. 502. — 5) G. J. STRACKE, Dissert. Amsterdam (1904). — 6) Entstehung von Äther-Schwefelsäuren im Organismus: T. SATO, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 378 (1909). — 7) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *112*, 122 (1891); ebenda, *105*, 1217. — 8) SCHIMPER, Flora (1890), p. 219. — 9) G. GOLA, Malpighia, *16* (1902). — 10) MÖRNER, Ztsch. physiol. Chem., *28*, 594 (1900). — 11) C. CAMERON, Roy. Dublin Soc. Proc. (1879), p. 231.

schädlich. Für die Mineralstoffresorption durch die Wurzeln im natürlichen Boden haben Selen- und Tellurverbindungen nach den bisherigen Beobachtungen keine Bedeutung. Die Angaben von GASSMANN (1) über weite Verbreitung von Spuren seleniger Säure bei Tieren und Pflanzen basieren auf unsicheren Methoden und sind wohl als widerlegt hinzustellen (2).

VI. Kieselsäure; Bor. Bei der außerordentlichen Verbreitung und dem massenhaften Vorkommen schwerlöslicher Silicate im Boden war die Frage nach der Aufnahme von Kieselsäure durch die Wurzeln und die Bedeutung dieser aufgenommenen Kieselsäure für den Stoffwechsel der Pflanzen seit SAUSSUREs Forschungen eine der nächstliegenden in der Mineralstoffphysiologie. Doch war es erst SACHS (3), der mit Hilfe der Wasserkulturmethode experimentell darzulegen vermochte, daß die Kieselsäure völlig entbehrt werden kann und daß die früher häufig geäußerte Ansicht, wonach die Kieselsäure zur Festigung der Gewebe beitrage und das Lagern des Getreides auf SiO_2-Armut des Bodens und der Pflanzen beruhe, der exakten Grundlage entbehrt. SACHS erzog eine Maispflanze in SiO_2-freier Wasserkultur, welche statt des normalen SiO_2-Gehaltes der Asche von 18—23% nur 0,7% enthielt, aber trotzdem völlig wohl ausgebildet war. Auch KNOP (4) gelangen solche SiO_2-freie Kulturen. JODIN (5) ließ Mais vier Generationen hindurch in kieselfreier Nährlösung wachsen, ohne daß eine Benachteiligung der Entwicklung eingetreten wäre. HÖHNEL (6) gelang es, eine Pflanze von Lithospermum arvense ohne SiO_2-Darreichung zu erziehen, welche in der Wand der Mericarpien nur Verkalkung und keine Verkieselung der Epidermis aufwies, ebenso auch in der Behaarung keine SiO_2-Einlagerungen besaß. Entbehrlich ist demnach die SiO_2 im normalen Quantum sicher. Doch haben einige Erfahrungen gelehrt, daß SiO_2-frei gezogene Pflanzen gegenüber normal ernährten oft im Nachteile sind. WOLFF und KREUZHAGE (7) beobachteten bei Avena bei SiO_2-Versorgung eine entschiedene Förderung der Körnerbildung gegenüber den SiO_2-frei erzogenen Exemplaren. Nach HALL und MORISON (8) tritt auch bei Gerste durch Darreichung löslicher SiO_2 frühere Bildung der Körner ein; eine Wirkung auf die Nutzbarmachung von PO_4 ließ sich nicht nachweisen. Auch wird von verschiedenen Seiten als ökologischer Nutzen der Si-Darreichung angegeben, daß normal mit SiO_2 versorgte Versuchspflanzen weniger von tierischen Parasiten und Brandpilzen zu leiden hatten als Si-freie Kulturen (9). Im Zusammenhange mit solchen Beobachtungen begegnet man in der älteren und neueren Literatur der Ansicht, daß die Verkieselung der Epidermiszellwände bis zu einem gewissen Grade einen Schutz gegen Angriffe pflanzlicher und tierischer Feinde bilden dürfte (10). Doch ist auch nicht zu vergessen,

---

1) TH. GASSMANN, Ztsch. physiol. Chem., *98*, 182 u. 255 (1917); *100*, 209 (1917); *108*, 38, (1919). — 2) R FRITSCH, Ebenda, *104*, 59 (1918). — 3) J. SACHS, Flora (1862), p. 53; Experim.physiologie (1865), p. 150. WICKE, Bot. Ztg., (1861), Nr. 16; PIERRE, Compt. rend., *63*, 374 (1866). Neue Versuche an Weizen: LUNDIE, Chem. News, *110*, 200 (1914). — 4) KNOP, Landw. Vers.stat., *2*, 185 (1862); Kreislauf des Stoffes, *1*, 221 (1868); Landw. Vers.stat., *3*, 176 (1862); RAUTENBERG u. KÜHN, Ebenda, *6*, 359 (1864). BIRNER u. LUCANUS, Ebenda, *8*, 141 (1866); WOLFF, Ebenda, *10*, 292 (1868). — 5) JODIN, Ann. Chim. et Phys. (5), *30*, 485 (1883); Compt. rend., *97*, 344 (1884). — 6) F. v. HÖHNEL, Haberlandts wiss.prakt. Unt., *2*, 160 (1877). — 7) E. v. WOLFF, Landw. Vers.stat., *26*, 415 (1881); C. KREUZHAGE u. WOLFF. Ebenda, *30*, 161 (1884). — 8) A. D. HALL u. C. G. T. MORISON, Proc. Roy. Soc., *77*, B, 455 (1905). — 9) A. SPRECHER, Bull. Soc. Bot. Genève (2), *3*, 155 (1913); M. LUNDIE, South Afric. Journ. Sci., *9*, 263 (1913). — 10) LIEBIG, zit. bei KNOP, Kreislauf des Stoffes, p. 221. JOHNSON, Wie die Feldfrüchte wachsen, übersetzt von LIEBIG (1872), p. 205; STAHL, Pflanzen u. Schnecken (1888), p. 72. Auch KOHL, Kalksalze u. Kieselsäure in der Pflanze (1889), p. 302.

daß sich die Kieselsäure als chemischer Wachstumsreiz betätigen kann, und überdies das physiologische Gleichgewicht in der die Wurzeln umgebenden Mineralsalzlösung durch SiO_2-Entziehung und SiO_2-Gegenwart beeinflußt werden kann. Wie veränderlich alle diese Verhältnisse bei den einzelnen Pflanzenarten sein mögen, lehrt u. a. das Vorkommen Si-reicher und Si-armer Pflanzen aus derselben Gattung, wie es von Erica-Arten (**1**) und Coniferen bekannt ist, worauf bereits Bezug genommen wurde (p. 450).

Nach MIETH (**2**) wird Calciumsilicat durch die Wurzeln aufgenommen, dabei SiO_2 in höherem Maße als CaO. GREGOIRE (**3**) fand auch beträchtliche Aufnahme von kolloider Kieselsäure; er meint, die Wirkung von Ammoniumsulfat könne teilweise auf Mobilisierung der SiO_2 beruhen. Über die Effekte von Kieselsäuredarreichung auf Nicotiana wären Angaben von BLANCK (**4**) zu vergleichen. Auch auf die vergleichenden SiO_2-Bestimmungen, welche BERTHELOT und ANDRÉ (**5**) an den verschiedenen Organen des Sommerroggens vorgenommen haben, sei hingewiesen. — Die als Quelle der Kieselsäure dienenden Nichtsedimentgesteine enthalten im Durchschnitt 47% O, 28% Si, 8% Al, 7% Fe, 6% Ca und Mg und 4% Alkalien (**6**).

LANGE (**7**) hat gezeigt, daß die Siliciumverbindungen, welche sich im Gewebssaft von Equisetum hiemale finden, nur Kieselsäurelösungen sind. Allerdings ist damit die Frage, welche Si-Verbindungen im Pflanzenorganismus vorkommen, noch nicht genügend erschöpfend beantwortet worden.

Borsäure war in älterer Zeit nur als gelegentlich vorkommender Aschenstoff von Pflanzenorganen angegeben worden, so von WITTSTEIN und APOIGER (**8**) für die Samen von Maesa picta. In neueren Untersuchungen wurde jedoch verschiedentlich gezeigt, daß Borsäuregehalt in verbreitetem Maße bei Landpflanzen nachzuweisen ist. MAZÉ (**9**) stellte für Mais Darreichung von Bor sogar als nötig hin. Als Quellen für die Aufnahme der Borsäure kommt sowohl der Boden selbst in Betracht, woselbst nach RENARD (**10**) die Verwitterungsprodukte turmalinführender Gesteinsarten die Hauptrolle als borsäurehaltige Materialien spielen, als auch, wie CALLISEN (**11**) fand, eine Reihe von künstlichen Düngungsmitteln: Chilisalpeter, Kainit, Guano und andere. Borsäuregehalt wurde von HOTTER (**12**) mit Hilfe der Esterifikationsmethode und der Curcumareaktion in sehr zahlreichen Früchten, in Heu, Blättern und Zweigen von Obstbäumen nachgewiesen, von BECCHI (**13**) im Epheu, von BAUMERT (**14**) bei Vitis, von LIPPMANN (**15**) bei Beta, und weitere Angaben machten CRAMPTON (**16**) (nordamerikanische Pflanzen), BECCHI (**17**) (Pflanzen von borsäurereichen Böden Italiens), BRAND (**18**)

---

1) P. FLICHE, Just (1890), I, 48. — Vorkommen von SiO_2 in den Organismen: C. ČERNY, Ztsch. physiol. Chem., *62*, 296 (1909). — **2**) H. MIETH, Landw. Vers.stat., *74*, 81 (1910). — **3**) A. GREGOIRE, Ann. Stat. Agron. Gembloux (1912). Humuskieselsäure hat keine besondere Wirkung nach HASELHOFF, Landw. Jahrb., *47*, 345 (1915). — **4**) E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *64*, 243 (1906). — **5**) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *114*, 257 (1892). — **6**) Vgl. J. E. REYNOLDS, Nature, *81*, 206 (1909). — **7**) W. LANGE, Ber. chem. Ges., *11*, 822 (1878). Über den Kieselsäuregehalt tierischer Organe, die manches bemerkenswertes bieten, vgl. GONNERMANN, Ztsch. physiol. Chem., *99*, 255 (1917); *102*, 78 (1918). Asche aus Taubenfedern besteht bis zu 77% aus SiO_2. — **8**) WITTSTEIN u. F. APOIGER, Lieb. Ann., *103*, 362 (1857). — **9**) MAZÉ, Compt. rend., *160*, 211 (1915). — **10**) A. F. RENARD, Bull. Ac. Roy. Belg. (3), *18*, 49 (1889). — **11**) J. S. CALLISEN, Just (1890), p. 50. — **12**) E. HOTTER, Landw. Vers.stat., *37*, 437 (1890). v. LIPPMANN, Chem.-Ztg. (1902), p. 465. — **13**) E. BECCHI, Bull. Soc. Chim. (3), *2*, 127 (1890). — **14**) G. BAUMERT, Ber. chem. Ges., *21*, 3290 (1888). — **15**) v. LIPPMANN, Ebenda, p. 3492 (1888). — **16**) C. A. CRAMPTON, Ebenda, *22*, 1072 (1889). — **17**) E. BECCHI, Just (1891), I, 30. — **18**) J. BRAND, Ztsch. ges. Brauwes., *15*, 426 (1892).

(Hopfen), GASSEND und DELTOUR (1) sowie JAY (2). Aufnahme und Verteilung von Bor ist nach COOK (3) bei den einzelnen Kulturpflanzen ungleich; so nimmt Weizen und Hafer sehr wenig Borax oder Calciumborat auf, Leguminosen und Succulenten relativ viel. Reife Kartoffeln enthielten relativ viel Bor, während in den oberirdischen Teilen wenig vorhanden war. Sonst wurde in Wurzeln weniger Bor gefunden. In allen diesen Fällen handelt es sich um Mengen von Borsäure, welche noch völlig physiologisch unwirksam sind. Nach NAKAMURA (4) vermag etwas höhere Konzentration von Borat eine Wirkung als Wachstumsreiz entfalten. Toxische Wirkungen werden aber bereits bei relativ geringen Boratmengen beobachtet. Über diese Giftwirkungen haben unter anderen ARCANGELI (5) und HOTTER (l. c.) Mitteilungen gemacht. — In neuerer Zeit hat AGULHON (6) ausgedehnte Beobachtungen über Vorkommen von Borsäure in Pflanzen und ihre Rolle als Reizstoff angestellt.

Geringe Borsäuremengen lassen sich nach VILLIERS und FAYOLLE (7) durch die bekannte grüne Flammenfärbung in folgender Weise auffinden. Man befeuchtet die Asche des Untersuchungsmateriales mit Schwefelsäure, fügt Methylalkohol zu und destilliert die Mischung so lange, bis weiße Schwefelsäuredämpfe auftreten. Das Destillat gibt beim Anzünden bei Borsäuregegenwart eine grüne Flamme. Zur quantitativen Borsäurebestimmung in Pflanzenmaterial sind die Angaben von CARNIELLI (8) und besonders jene von HEBEBRAND (9) zu vergleichen.

VII. Die Halogengruppe. Da Chloride in vielen Bodenarten verbreitet vorkommen, ist Chlorgehalt der Asche wildwachsender Pflanzen ein äußerst häufiger Befund, wie die Erfahrungen der Aschenanalysen tausendfältig gelehrt haben. Die Chloride kommen offenbar zur Aufnahme durch die Wurzeln nach Maßgabe ihrer Konzentration im Substrat. Dies zeigt der relativ sehr bedeutende Chloridgehalt von Pflanzenasche auf kochsalzreichem Boden im Binnenlande und am Seestrand, der bis 35% betragen kann. Mit künstlichen Düngemitteln vermehrt man häufig den Chloridgehalt des Bodens und der darauf gedeihenden Pflanzen in nicht unerheblichem Grade. So wurde die Frage nach der Bedeutung des Cl für die Pflanze frühzeitig zu einem der Hauptprobleme der Mineralstoffphysiologie und Agrikulturwissenschaft, zumal die Konstanz und Reichlichkeit des Chloridvorkommens im Tierkörper, sowie die Wichtigkeit der Versorgung des Tierorganismus mit dem nötigen NaCl sich in auffallender Art von den stark wechselnden, bisweilen auf Spuren verminderten Chloridmengen in der Pflanze abhob. Versuche mit Wasserkulturpflanzen zeigten bald, daß es möglich ist, die meisten Versuchsobjekte in chloridfreien Nährlösungen zu vollkommen normaler Entwicklung zu bringen. Von den vielfältigen Erfahrungen in dieser Richtung seien nur die Versuche von KNOP und DWORZAK (10) an Mais erwähnt, die zur Folge hatten, daß KNOP das Cl als einen für die Ernährung der Pflanze völlig indifferenten Faktor hinstellte. Diese Anschauung wurde in ihrer allgemeinen Geltung durch die sorgfältigen

---

1) A. GASSEND, Chem. Zentr. (1892), I, 35; E. DELTOUR, Ebenda (1893), II, 113. — 2) H. JAY, Compt. rend., *121*, 896 (1895). — 3) F. C. COOK, Journ. Agr. Res., *5*, 877 (1916). — 4) M. NAKAMURA, Bull. Agr. Coll. Tokyo, *5*, 509 (1903). — 5) ARCANGELI, Just (1886), I, 133. — 6) H. AGULHON, Ann. Inst. Pasteur., *24*, 321 (1910); Thèse Paris 1910. — 7) VILLIERS u. FAYOLLE, Journ. Pharm. et Chim. (6), *2*, 241 (1895). — 8) G. CARNIELLI, Chem. Zentr. (1901), II, 600. — 9) A. HEBEBRAND, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mitt., *5*, 1044 (1902). — 10) KNOP u. DWORZAK, Ber. sächs. Ges. Leipzig (1875), p. 61. KNOP, Kreislauf des Stoffes (1868), p. 615.

und kritischen Studien erschüttert, welche NOBBE und SIEGERT an Fagopyrum esculentum anstellten (1). Chloridfreie Kulturen von Buchweizen kamen nicht zum Fruchtansatze und zeigten die Blätter auffällig mit Stärke angefüllt, welche nicht, wie normal, in die übrigen Teile der Pflanze abtransportiert worden war. Diese Erfahrungen wurden mehrfach bestätigt und auch für andere Blütenpflanzen wurde der nachteilige Einfluß chloridfreier Kultur hervorgehoben, so von FARSKY (2) auch für Avena und Hordeum, von ASCHOFF (3) für Phaseolus und Mais. Andererseits lauteten freilich Erfahrungen von A. MAYER (4) dahin, daß die Gegenwart der Chlor-Ionen im Nährsalzgemisch selbst bei Fagopyrum keine regelmäßige und notwendige Existenzbedingung für die Pflanze darstellt. In neuerer Zeit hat es P. KOENIG (5) direkt in Abrede gestellt, daß Chloriddarreichung für Fagopyrum unentbehrlich ist, und hat die von NOBBE beobachteten pathologischen Erscheinungen nach Chloridentziehung anderweitigen Ursachen außerhalb des Zusammenhanges mit dem Chlormangel zur Last gelegt. PFEIFFER und SIMMERMACHER (6) finden den Chlorbedarf des Buchweizens „sehr gering". In der Tat liegt, soweit es die unvollkommene Erforschung der Sachlage zuläßt, der Verdacht nahe, daß es sich um Störungen des physiologischen Salzgleichgewichtes in den erwähnten Symptomen handelt, und es wäre zunächst nachzusehen, durch welche Salzionenzusätze die (übrigens auch von A. MAYER bestätigte) Hemmung des Stärketransportes und andere Erscheinungen des sog. Chloridhungers beeinflußt werden können. Auch die öfters in der Literatur erwähnten schädlichen Folgen des Chloridgehaltes im Boden (7) lassen deutlich erkennen, daß hierbei die Wirkungen von $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ im Spiele sind, und es sind Wurzeln gegen $CaCl_2$, besonders gegen $MgCl_2$ recht empfindlich. Für bestimmte Funktionen der Chloride im pflanzlichen Stoffwechsel, die allgemeinere Natur haben, besteht derzeit kein Anhaltspunkt. Daß es wünschenswert wäre, besonders für die marinen niederen und höheren Pflanzen diese Frage zu prüfen, liegt auf der Hand. Hier ist bisher nur auf die Wichtigkeit des Natrons geachtet worden.

Zweifellos verläuft die Aufnahme der Chloride aus dem Boden regulatorisch, wie schon aus älteren Versuchen von BIEDERMANN (8) hervorgeht. Aus verdünnten Lösungen wird aber doch prozentisch weniger Cl' aufgenommen als aus konzentrierteren Nährsalzmischungen, ohne daß Proportionalität besteht. Überschwemmung von Landphanerogamen mit Chloriden kann erhebliche Störungen, selbst den Tod herbeiführen. Hierbei ist die osmotische Salzwirkung und der spezifische Einfluß der Chlorionen viel mehr zu sondern als es bisher geschehen ist. Versuche über die Wirkung verschiedener Chloride in Topfkulturen hat WYPLEL (9) angestellt. Praktische Feldversuche hatten verschiedene Erfolge, z. B. bei Kartoffeln, wie den Mitteilungen von SCHULTE, SJOLLEMA (10) und anderen Autoren zu entnehmen ist.

---

1) NOBBE u. SIEGERT, Landw. Vers.stat., *4*, 318; *5*, 116; *6*, 108; *7*, 380; *13*, 398; BEYER, Ebenda, *11*, 262 (1869); WAGNER, Ebenda, *13*, 128 (1871). LEYDHECKER, Ebenda, *8*, 177; HAMPE, Ebenda, *9*, 64. — 2) F. FARSKY, Just (1881), I, 36. Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *21*, 161 (1918). — 3) C. ASCHOFF, Landw. Jahrb., *19*, 113 (1890). — 4) AD. MAYER, Journ. f. Landw., *49*, 41 (1901); Lehrb. d. Agr.Chem., *1*, 286; 5. Aufl. (1901). — 5) P. KOENIG, Verh. Nat. Ges. (1911), II, *1*, 261; Ztsch. angew. Chem., *24*, 1852 (1912). — 6) PFEIFFER u. SIMMERMACHER, Landw. Vers.stat., *88*, 105 (1916). — 7) BILLARD u. G. VAQUIER, Soc. Biol. (1910), I, 1061; T. TAKEUCHI u. S. ITO, Bot. Mag. Tokyo, *25*, 132 (1911); FL. N. MAGOWAN, Bot. Gaz., *45*, 45 (1908). — 8) R. BIEDERMANN, Landw. Vers.stat., *9*, 312 (1867). Kreislauf des Cl auf der Erde: P. KOSSOWITSCH, Russ. Journ. exp. Landw., *14*, 181 (1913). — 9) M. WYPLEL, Jahresber. Gymn. Waidhofen N.-Österr. (1892). — 10) J. SCHULTE, Magdeburg. Ztg. (1894), Nr. 244; R. SJOLLEMA, Journ. Landw., *47*, 305 (1900).

Das Jod ist vielleicht zu den in Spuren verbreiteten Grundstoffen zu zählen. Schon in älterer Zeit waren dahin lautende Angaben gemacht worden, so von CHATIN, welche aber noch der vollen Zuverlässigkeit entbehrten. Seit den Arbeiten GAUTIERS (**1**) jedoch kann darüber kein Zweifel bestehen, daß in den Staubteilchen, welche in der Luft schweben, allenthalben Jodgehalt nachzuweisen ist, welcher wahrscheinlich auf die Sporen der Algen, Bacterien, Pilze, Moose, die in der Luft suspendiert sind, bezogen werden muß. In Süßwasseralgen konnte GAUTIER stets Jod nachweisen, sowie in Flechten. BOURCET (**2**) konstatierte, daß Jod fast stets in der Ackererde vorkommt und auch das Regenwasser jodhaltig ist. Deshalb enthalten viele Landpflanzen Jod, besonders reichlich Wurzeln, stärkearme Knollen, u. a. auch die Zuckerrübe; ebenso Blätter und Stengel krautartiger Gewächse, ferner manche Früchte. Im Weine fand sich Jod, nicht hingegen in Baumfrüchten und stärkereichen Samen. Doch sind Landpflanzen stets weit jodärmer als marine Organismen (**3**). Über die Verbreitung von Jod sind übrigens die Meinungen geteilt. Während MAZÉ (**4**) so weit geht, zu behaupten, daß Spuren von Jod zum Gedeihen von Mais nötig sind, äußern sich mehrere neuere Angaben (**5**) dahin, daß die Befunde von Jod bei Landpflanzen mehr zufälliger Natur seien, und WINTERSTEIN fand Jod nur in 5 von 38 Fällen in tausendstel Prozenten. Durch die schöne Entdeckung BAUMANNS über das Vorkommen eines jodhaltigen Eiweißstoffes in der menschlichen Schilddrüse ist es wahrscheinlich geworden, daß jodhaltige Proteinsubstanzen verbreitet die Ursache des Jodgehaltes pflanzlicher und tierischer Organe und Gewebe seien. Doch hat sich die Angabe von JUSTUS (**6**), wonach die Zellkerne regelmäßig solche Stoffe führen, nicht bestätigen lassen, da die verwendete Methode keine verläßliche ist (**7**).

Kaliumjodid und Kaliumbromid sind in genügender Verdünnung, wie schon DIRCKS (**8**) gezeigt hat, unschädlich. Doch wirken sie noch in verhältnismäßig geringen Konzentrat onen toxisch, und zwar KJ mehr als KBr. Algen vertragen nach O. LOEW (**9**) noch 0,5% Lösungen ziemlich gut, während Phanerogamen empfindlicher sind.

Sehr kleine Mengen Fluor dürften auch im Pflanzenreiche weit verbreitet vorkommen. Schon FÜRST ZU SALM-HORSTMAR (**10**) konstatierte Fluorgehalt von Lycopodium clavatum. In neuerer Zeit entdeckte ALVISI (**11**) Fluor in kleiner Menge in vielen Getreidearten, welches er sich mit Hilfe der sauren Wurzelausscheidungen aus den fluorhaltigen Bodensilicaten aufgenommen denkt. Doch findet sich nach GAUTIER und CLAUSMANN (**12**) Fluor gelöst in süßem Wasser, in Trinkwasser nicht über 0,6 mg pro Liter, oft mehr in Mineralwasser. Fluor ist bekanntlich in weit verbreiteten Mineralien (Apatit) stets vorhanden, ebenso ein normaler Bestandteil der tierischen

---

1) GAUTIER, Compt. rend., *128*, 643, 1069; *129*, 189 (1899); *170*, 261 (1920). Negative Resultate bezüglich Brom: A. PILLAT, Ztsch. physiol. Chem., *108*, 158 (1919). — **2**) P. BOURCET, Ebenda, *129*, 768 (1899); *130*, 1721 (1900); *132*, 1364 (1901). H. ERDMANN, Ztsch. f. Nat. wiss., *69*, 47 (1896). BUSTAMANTE, Ann. Chim. et Phys. (2), *62*, 110 (1836) hatte Jodgehalt von Agave angegeben. — **3**) CAMERON, Journ. Biol. Chem., *23*, 1 (1915). — **4**) MAZÉ, Compt. rend., *160*, 211 (1915). — **5**) BOHN, Journ. Biol. Chem., *28*, 375 (1917). WINTERSTEIN, Ztsch. physiol. Chem., *104*, 54 (1918). — **6**) J. JUSTUS, Virch. Arch., *170*, 501 (1902); *176*, 1 (1904). — **7**) J. BABIY, Ber. bot. Ges., *31*, 35 (1913); F. BLUM u. R. GRÜTZNER, Ztsch. physiol. Chem., *91*, 392 (1914). — **8**) DIRCKS, Ber. sächs. Ges. Leipzig (1869), p. 20. Auch KNOP, Ebenda (1885), p. 44. — **9**) O. LOEW, Flora (1892), p. 374. — **10**) SALM-HORSTMAR, Pogg. Ann., *111*, 339; *114*, 510 (1861). — **11**) U. ALVISI, Gazz. chim. ital., *42*, II, 450 (1912). — **12**) A. GAUTIER u. P. CLAUSMANN, Compt. rend., *158*, 1389 (1914); *160*, 194 (1915); *162*, 105 (1916). Fluor am meisten in Glimmer: STEINKOENIG, Journ. Ind. Eng. Chem., *11*, 463 (1919).

Knochen. Nach ZDAREK (1) ist über die Hälfte des Fluors von Knochen im Knochenfett vorhanden; Leber und Niere enthalten nächst den Knochen am meisten Fluor. Die Schalen der Süßwassermollusken enthalten weniger F als jene der marinen Formen (0,002—0,004 % gegen 0,012%) (2). Bei Pflanzen sind nach GAUTIER die Blätter am reichsten, Holz und Rinde am ärmsten an Fluor.

SALM-HORSTMAR hatte das Fluor für die Entwicklung von Pisum für nötig erachtet, doch konnte dies TAMMANN (3) in neueren Versuchen nicht bestätigen. Nach dem letztgenannten Forscher könnte das Fluor aus dem Boden von den Wurzeln als kieselfluorwasserstoffsaures Salz resorbiert werden. Sowohl Fluoride als kieselfluorwasserstoffsaure Salze sind schon in kleinen Gaben toxisch. Nach TAMMANN gehen Erbsenpflanzen in einer Nährlösung, welche pro Liter 0,1 g KF enthält, sehr rasch zugrunde; schon 0,008 g Kieselfluorkalium pro Liter wirkte binnen 2 Tagen tödlich. In sehr kleinen Dosen dürften Fluoride bei Landphanerogamen als Wachstumsreiz wirken. Für den Tierorganismus nahm GAUTIER (4) an, daß das Fluor die Bindung des Phosphors in den Zellen sichern solle.

Zur Bestimmung des Fluors in Pflanzenaschen kann die von OST (5) angegebene Methode der Gewichtsabnahme von Glasplättchen durch Anätzung dienen.

§ 4.

Die Resorption ungelöster Bodenbestandteile durch die Wurzeln. Ausscheidung von Substanzen durch die Wurzeln. Wechselbeziehungen zwischen den Pflanzen und dem Boden.

Da die Wurzeln darauf angewiesen sind, ihre Nahrung aus dem Boden auf dem Wege der Endosmose durch Zellmembranen und Plasmahaut in das Innere der Zellen aufzunehmen, so müssen, wie LIEBIG seit 1840 hervorgehoben hatte, die zur Aufnahme bestimmten Stoffe in gelöstem Zustande geboten sein. Im Boden ist nun tatsächlich eine Lösung aller notwendigen Mineralstoffe vorhanden, allerdings in sehr verdünntem Zustande. Zahlreiche Drain- und Lysimeterwasseranalysen (6) haben gezeigt, daß 0,01—0,03 % fester Rückstand in diesen Bodenlösungen gefunden wird, während wir sahen, daß Wasserkulturen in der 10fachen Konzentration ihr bestes Gedeihen finden. Ist nun dieser Gehalt an Mineralstoffen, wie ihn die Pflanzen in der Bodenfeuchtigkeit vorfinden, zum Leben ausreichend? Bezüglich einiger wichtiger Mineralnährstoffe besteht kein Zweifel, daß schon so außerordentlich große Verdünnungen hinreichen würden. Nach VILLE (7) genügt ein Gehalt des Bodens von 4 Millionstel Teilen Phosphorsäure, um eine, wenn auch kümmerliche Vegetation von Weizen hervorzurufen, und welche Ver-

---

1) E. ZDAREK, Ztsch. physiol. Chem., *69*, 127 (1910). Fluorgehalt der Zähne: TH. GASSMANN, Ebenda, *55*, 455 (1908); *63*, 397 (1909). — 2) P. CARLES, Compt. rend., *144*, 1240 (1907). — 3) G. TAMMANN, Ztsch. physiol. Chem., *12*, 323 (1888). MAZÉ, Compt. rend., *160*, 211 (1915) hat sich gleichfalls für die Notwendigkeit des F bei der Entwicklung von Mais geäußert. — 4) A. GAUTIER, Compt. rend., *158*, 159 (1914). Soc. Biol., *76*, 107 (1914). — 5) H. OST, Ber. chem. Ges., *26*, 151 (1893). — 6) Vgl. z. B. N. H. J. MILLER, Journ. Agr. Sci., *1*, 377 (1906). L. LYON u. J. A. BIZZELL, Journ. Ind. Eng. Chem., *3*, 742 (1911). — 7) G. VILLE, Compt. rend., *111*, 158 (1890).

dünnungen von Phosphorsäure noch wirksam sind, geht ferner aus den schon erwähnten Feststellungen von SCHLOESING hervor. Ähnlich liegt es auch für Kali. Es wäre dankenswert, diese Versuche für alle wichtigen mineralischen Nährstoffe fortzusetzen. Möglicherweise würden dieselben zum Resultate führen, daß auch solche Nährlösungen höchster Verdünnung bei passendem Mengenverhältnis der Bestandteile und bei möglichst freier Diffusion im Medium, so daß der Pflanze ein unbegrenztes Volumen der Nährlösung durch den diosmotischen Austausch zur Verfügung steht, vollkommen entsprechen. Stehen nun aber die Erfahrungen an der Vegetation in Feld und Wald mit einer solchen ausschließlichen Bedeutung der im Boden gelösten Bestandteile als Nahrung im Einklange? Es war ebenfalls LIEBIG, welcher sich zuerst darüber klar war, daß die Pflanzenwurzeln aktive lösende Tätigkeiten entfalten müssen, wenn die zu beobachtenden Veränderungen im Boden und Ernährungsverhältnisse zustande kommen sollen. Wir gelangen in der Tat durch Beobachtungen, Experimente und Überlegungen zur Einsicht, daß eine Anzahl direkter und indirekter Einwirkungen der Wurzeln auf ihr Substrat erfolgt, welche eine vermehrte Löslichkeit der Mineralstoffe in der die Wurzeln umgebenden Bodenfeuchtigkeit bedingen, so daß wir von einer aktiven lösenden Rolle der Wurzeln im Boden sprechen dürfen.

Es läßt sich nachweisen, daß Pflanzen aus unlöslichen Phosphatgesteinen Phosphorsäure aufnehmen. DAUBENY (1) erzog Gerste in verschiedenen Gesteinen, worin er keine Phosphorsäure nachweisen konnte, nachdem das Material zu feinem Sand verrieben war, und fand in der Ernte mehr Phosphorsäure als das Aussaatmaterial enthalten hatte. LECHARTIER (2) kultivierte Buchweizen in Sand aus Granit und Schiefer, welcher von löslichen Phosphaten frei war, und fand, daß kleine Mengen Phosphorsäure hieraus aufgenommen wurden. Doch ist nach den Versuchsergebnissen von PRIANISCHNIKOW (3) und von KOSSOWITSCH (4) die Befähigung zur Aufnahme unlöslicher Phosphate nicht bei allen Pflanzenarten gleich gut ausgebildet. Gramineen z. B. bleiben bei Phosphoritdarreichung viel schwächlicher als Lupine und Fagopyrum, und Senf nützt Phosphorit sehr gut aus, während Linum dies viel weniger gut imstande ist. SCHREIBER (5) fand für die Majorität seiner Untersuchungsobjekte schwache Ausnutzung unlöslicher Phosphate. Hier hatte demnach der nach SCHLOESING stattfindende Übergang unlöslicher Phosphate in lösliche keinen genügenden Erfolg für die Ernährung der Pflanzen gehabt. RAVENNA und ZAMORANI (6) heben hervor, daß Cruciferen (Sinapis alba) Tricalciumphosphat mehr ausnützen als Leguminosen und Gräser. Nach MITSCHERLICH (7) nützt Klee Thomasmehl um 20 % besser aus als Hafer. Auch BLANCK (8) fand diese Überlegenheit von Leguminosen über die Gräser. A. STRIGEL (9) gibt dasselbe an. In der von ihm mitgeteilten Zahlentabelle war Heracleum Sphondylium am stärksten lösend wirksam, Dianthus deltoides und Lychnis Flos cuculi am wenigsten. Säuregehalt und Säureresistenz verschiedener Wurzeln verglich ASO (10); 0,01 %

---

1) DAUBENY, Journ. prakt. Chem., *64*, 457. — 2) G. LECHARTIER, Compt. rend., *108*, 1058 (1884). — 3) D. PRIANISCHNIKOW, Ber. dtsch. bot. Ges., *18*, 411 (1900). — 4) KOSSOWITSCH, Russ. Journ. exp. Landw. (1902). — 5) C. SCHREIBER, Rev. gén. agron. (1897). — 6) C. RAVENNA u. M. ZAMORANI, Staz. Sper. Agr. Ital., *42*, 389 (1909); vgl. auch G. CORSO, Ebenda, *44*, 309 (1911). Ann. Chim. Agr. Rom., *5*, 123 (1912). — 7) E. A. MITSCHERLICH, Landw. Vers.stat., *81*, 469 (1913). — 8) E. BLANCK, Journ. Landw., *62*, 129 (1914). — 9) A. STRIGEL, Landw. Jahrb., *43*, 349 (1912). — 10) K. ASO, Flora, *100*, 311 (1910).

Citronensäure wurde sehr schädlich gefunden bei Spinacia, Sinapis, Pisum, etwas weniger bei Lupinus, Hordeum, Avena, Solanum tuberosum. Ob dies etwas mit dem Aufschließungsvermögen zu tun hat, scheint mir sehr zweifelhaft.

LIEBIG (1) lenkte zuerst die Aufmerksamkeit darauf, daß man häufig in Wiesen glatte Kalkgeschiebe findet, deren Oberfläche mit feinen Furchen netzartig bedeckt ist. Jede solche vertiefte Linie entspricht einer Wurzelfaser, gleichsam als ob sich diese in den Stein eingefressen hätte. NÖGGERATH (2) beobachtete, wie Luzerne, auf einem alten Totenfelde wachsend, Knochenstücke vollständig mit Wurzelfilz durchsetzt hatte. SACHS (3) zeigte aber in seinen berühmt gewordenen Versuchen, wie man auf glatt polierten Marmorplatten, welche in die Erde eines Blumentopfes schräg eingestellt wurden, nach mehrwöchentlichem Wachstum der darin angesäten Pflanzen künstlich ähnliche Korrosionsfiguren durch Pflanzenwurzeln sehr schön erhalten kann. Am besten ist es nach dem Vorgange von KNY (4) schwarzen Marmor anzuwenden, welcher selbst die Wurzelhaare in feinster Kontaktätzung abbildet. Dadurch wird auch der Einwand, welchen MULDER (5) gegen die richtige Deutung dieser Erscheinungen seitens LIEBIG geltend machte, daß nur die in Zersetzung übergehenden älteren Teile der Wurzeln die Furchen erzeugen, widerlegt. Diese Zerstörungen, welche anfangs in kaum sichtbaren Spuren der Wurzeln auf Gesteinsoberflächen bestehen, werden im Laufe der Zeit zu geologisch bedeutsamen Ereignissen, und „der Zahn der Zeit" ist in der Tat die unscheinbare Spur eines zarten Würzelchens.

SACHS befaßte sich auch bereits mit der Frage, auf welche Art die Wurzeln diese lösenden Wirkungen zustande bringen, und betrat hierbei den richtigen Weg, indem er verschiedene Mineralien auf ihre Fähigkeit korrodiert zu werden, prüfte. Ebenso wie auf Marmor, wurden die Ätzungen auf Platten aus Dolomit, Magnesit und Osteolith beobachtet, Silicate zeigten jedoch keine Korrosionen; auf Gipsplatten wurde der Wurzelverlauf durch erhabene Linien gekennzeichnet, da die engangeschmiegten Wurzeln den Gips gegen die Lösung durch die Bodenflüssigkeit schützten. Die Mineralien, bei denen nun SACHS Korrosion fand, sind sämtlich in kohlensäurehaltigem Wasser löslich. Nach den Angaben bei KNOP (6) ist erforderlich zur Lösung je eines Gewichtsteiles des Minerals an kohlensäuregesättigtem Wasser: für Apatit 393000, für gefälltes neutrales Calciumphosphat 1503, für basisches Calciumphosphat 1102, für gebrannte Knochen 2823, für Elfenbeinspäne 5620, für Calciumcarbonat 10600 Teile Wasser. Zahlreiche andere Daten sind bei MULDER (7) zusammengestellt. SACHS selbst äußerte sich bezüglich der Rolle der Kohlensäure bei der Lösung von Gesteinen sehr vorsichtig. Bestimmter lauten die Angaben von REINKE (8) in späterer Zeit, und in der Tat läßt es sich experimentell wahrscheinlich machen, daß die

---

1) J. LIEBIG, Lieb. Ann., *105*, 109 (1858). — 2) J. NÖGGERATH, Westermanns ill. Mon.hefte (1859), Nr. 35, zit. von NOBBE, Landw. Vers.stat., *4*, 216 (1862). — 3) J. SACHS, Bot. Ztg. (1860), p. 117. Exper.physiologie (1865), p. 188. — 4) L. KNY, Sitz.ber. Ges. Nat.forsch. Freunde Berlin (1896), Nr. 7. Moosrhizoiden üben nach H. PAUL, Englers bot. Jahrb., *32*, 231 (1903), keine korrodierenden Wirkungen aus. — 5) MULDER, Chemie d. Ackerkrume, *2*, 270 (1862). — 6) W. KNOP, Kreislauf des Stoffes (1868), *1*, 179. — 7) MULDER, Chemie der Ackerkrume, *1*, 515, 198. — 8) J. REINKE, Lehrb. allg. Bot. (1880), p. 467. Vgl. aber auch KNOP, l. c., p. 659.

von den Wurzeln produzierte Kohlensäure beim Zustandekommen der Korrosionen den Hauptanteil besitzt (1).

Wenn man feinstes gebranntes Gipsmehl mit dem gleichen Gewichte anderer wasserunlöslicher Verbindungen: Carbonate oder Phosphate von Ca, Mg, Fe und Al, und Wasser zu einem dicken Brei anrührt und diesen Brei auf einer Spiegelglasplatte erstarren läßt, so erhält man glatte, zu Korrosionsversuchen gut geeignete Platten, deren Löslichkeit in verschiedenen Säuren bestimmt und ausgewählt werden kann. So konnte gezeigt werden, daß alle jene Platten, die aus einem in CO_2-reichem Wasser merklich löslichen Stoffe bestehen (Carbonat von Ca, Mg, Fe, Phosphate derselben Metalle) auch von Wurzeln korrodiert werden, während das in CO_2 gesättigtem Wasser unlösliche, aber in HCl, HNO_3, H_2SO_4, H_3PO_4, Oxalsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Citronensäure und Milchsäure lösliche Aluminiumphosphat von Wurzeln nicht angegriffen wird. Außer in CO_2 ist aber Tonerdephosphat auch in Essigsäure und Propionsäure sehr wenig löslich. Diese beiden Fettsäuren geben jedoch noch in großer Verdünnung Bläuung mit Kongorot, während Wurzeln keine blauen Spuren hinterlassen, wenn sie an Gipsplatten, die mit Kongorot gefärbt wurden, hinwachsen. Somit dürften auch diese Säuren als Ursache der Korrosionen nicht in Betracht kommen, und es ist am wahrscheinlichsten, daß die Kohlensäure die Hauptrolle bei den Lösungsvorgängen spielt. Jedenfalls ist aber bei der Übertragung dieser Erfahrungen auf die Verhältnisse im Boden Vorsicht geboten. Wenn in den Sandkulturen von PRIANISCHNIKOW (2) auch Aluminiumphosphat als PO_4-Quelle für die Wurzeln dienen konnte, so muß dies nicht durch Säuren vermittelt werden, die seitens der Wurzeln erzeugt werden, sondern es wäre erst festzustellen ob nicht Pilze und Bacterien als Säureproduzenten tätig sind. Ebenso ist es für die von KUNZE (3) herangezogene Mitwirkung von organischen Säuren bei der Aufschließung des Bodens kritischer zu untersuchen, als es bisher geschehen ist, ob solche Säuren tatsächlich von den Wurzeln stammen. Geringe Mengen von organischen Säuren können bei den erwähnten Gipsplattenversuchen übersehen werden.

STOKLASA und ERNEST (4) legten gleichfalls auf die Kohlensäurewirkung das Hauptgewicht und betonen die große Atmungsenergie des Wurzelsystems. In 24 Stunden kamen auf 1 g Wurzeltrockensubstanz bei Roggen 100,7 bis 131 mg, bei Hafer 111,5 bis 135,4 mg CO_2. ABERSON (5) prüfte die Säurewirkung der Wurzelausscheidungen mittels der Gaskettenmethode und fand so geringe Werte für die Wasserstoffionenkonzentration, daß nur CO_2 in den Schleimhüllen der Wurzelhaare in Betracht kommen kann. Von landwirtschaftlicher Seite wurden aber wieder Bedenken geäußert, ob nur CO_2-Gehalt der die Wurzeln umgebenden Imbibitionsflüssigkeit die Erscheinung der Bodenaufschließung erklären könne (6). In der Tat wird im natürlichen Boden diese CO_2-Wirkung nicht der einzige aufschließende Faktor sein, da besonders die Bodenorganismen wesentlich mitwirken können. Allerdings darf man die

1) F. CZAPEK, Jahrb. wiss. Bot., *29*, 321 (1896). — 2) D. PRIANISCHNIKOW, Ber. dtsch. bot. Ges., *22*, 184 (1904). — 3) G. KUNZE, Jahrb. wiss. Bot., *42*, 357 (1906). — 4) J. STOKLASA u. A. ERNEST, Ebenda, *46*, 55 (1908). Vgl. auch A. R. HAAS, Proc. Nat. Acad. Sci., *2*, 561 (1916). — 5) J. H. ABERSON, Ebenda, *47*, 41 (1909); Med. Rijks Hoog. Land-Tuin-en Boschb. I. Wageningen 1908. Versuche mit Phenolsulfophthalein als Indicator: A. R. HAAS, Procced. Acad. Nat. Sci. Washington, *2*, 561 (1916). — 6) TH. PFEIFFER u. E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *77*, 217 (1912). E. A. MITSCHERLICH, Landw. Jahrb., *39*, 157 (1909).

Wirkung CO_2-gesättigten Wassers nicht schlechthin mit dem Wurzeleffekt vergleichen, da die unter hohem Drucke stehende adsorbierte CO_2 in den Schleimmembranen der Wurzel voraussichtlich viel energischer Reaktionen verursacht.

Die CO_2-Produktion der Wurzeln war schon älteren Forschern (**1**) aufgefallen. WIEGMANN und POLSTORF hatten dieselbe in einfacher Weise dadurch nachgewiesen, daß sie Wurzeln einige Stunden in neutraler Lackmuslösung wachsen ließen, worauf sich Rotfärbung einstellte, die durch Kochen leicht zum Verschwinden gebracht werden konnte. Auch Entfärbung von sehr schwach alkalischer, mit Phenolphthalein rot gefärbter Flüssigkeit durch Wurzeln beruht nur auf der CO_2-Ausscheidung. Neuere Versuche von COUPIN (**2**) scheinen zu zeigen, daß diese Säurebildung nicht an den Wurzelhaaren, sondern an der Wurzeloberfläche selbst, besonders bei beschädigten Rindenzellen, intensiv ist, was gleichfalls für die Atmungskohlensäure als Ursache spricht. KNOP (**3**) berichtete über eine Reihe von quantitativen Bestimmungen der von Wurzeln abgegebenen CO_2, die bei einer Maispflanze von 90 cm Höhe in 24 Stunden zwischen 0,201 und 0,558 g CO_2 bei gewöhnlicher Temperatur betrug, während eine kräftig wachsende Bohnenpflanze in 12 Nachtstunden zwischen 0,020 und 0,076 g CO_2 erzeugte. Bei normal im Boden vegetierenden Wurzelsystemen dürften voraussichtlich bedeutend höhere Zahlen erreicht werden. Da in der Imbibitionsflüssigkeit der schleimigen Membranschichten der Wurzelhaare, die mit den Bodenpartikeln in so innigem Kontakte stehen, die CO_2 unter hohem Drucke durch die Oberflächenverdichtung stehen muß, so dürfte die erreichbare Wasserstoffionenkonzentration wohl mit schwächeren organischen Säuren vergleichbar sein.

Durch diese Tatsachen und Experimente ist nachgewiesen, daß die Pflanzenwurzeln durch vitale Prozesse die Löslichkeit der mit ihnen in Kontakt stehenden Bodenteilchen vermehren und aktive Lösungsprozesse verursachen. Erklären nun aber alle diese Ergebnisse den kolossalen Einfluß der Vegetation auf den Boden? In älterer und neuerer Zeit begegnen wir diesbezüglich berechtigten Zweifeln. Schon LIEBIG (**4**) machte geltend, daß wir durch Auslaugen des Bodens mit kohlensäurereichem Wasser nur verschwindende Bruchteile derjenigen K und P_2O_5-Menge zu entziehen vermögen, welche sich die Pflanzen zunutze machen können. Auch DIETRICH (**5**) fand, daß aus Buntsandstein- und Basaltböden durch die Vegetation bedeutend mehr Bestandteile entzogen wurden, als bloße Verwitterung in lösliche Form zu bringen vermag. In neuerer Zeit begegnet man am häufigsten der Vorstellung, daß die Wurzeln außer CO_2 auch noch stärkere Säuren produzieren, welche kräftig aufschließende Wirkung auf unlösliche Materialien besitzen. Welche Berechtigung hat nun diese Ansicht?

Bei seinen Versuchen, elektrochemische Kräfte in Pflanzen nachzuweisen, entdeckte 1833 BECQUEREL (**6**), daß alle Keimwurzeln, auf angefeuchtetes neutrales Lackmuspapier gelegt, die Eigenschaft haben,

---

1) J. MURRAY, zit. bei TREVIRANUS, Physiologie, II, 111; A. J. WIEGMANN sen., Jahresber. über d. Result. d. Arb. physiol. Bot. v. MEYEN 1834. — **2**) KNOP, Kreislauf des Stoffes, *1*, 660. — **3**) H. COUPIN, Compt. rend., *165*, 564 (1917). — **4**) LIEBIG, Die Chemie in ihrer Anwendung usw., 7. Aufl., II, 108 (1862). — **5**) DIETRICH, zit. bei A. MAYER, Agrik. Chem., II, *1* (Bodenkunde), 4. Aufl., p. 58 (1895). Gesteinzersetzung: LEMMERMANN, EINECKE u. FRESENIUS, Landw. Vers.stat., *89*, 81 (1916); HASELHOFF u. ISERNHAGEN, Landw. Jahrb., *50*, 115 (1916). — **6**) BECQUEREL, Ann. Chim. et Phys. (2), *52*, 240 (1833). Lieb. Ann., *8*, 92 (1833); Archiv. de Bot., *1*, 400 (1833).

dasselbe an den Berührungsstellen lebhaft und dauernd rot zu färben. Zweifellos ist hier Kohlensäure nicht die Ursache, und wie ich (l. c. 1896) dargelegt habe, wurde irrigerweise lange Zeit hindurch diese Erscheinung mit der durch CO_2 verursachten Gesteinskorrosion zusammen auf eine gemeinsame Ursache bezogen. BECQUEREL meinte, es handle sich um Essigsäure; andere Autoren, wie SPRENGEL (1), ließen die Natur der Säure unbestimmt; BOUSSINGAULT (2) nahm an, es dürfte Milchsäure vorliegen. Aber sowohl die Ansicht von BECQUEREL, welcher sich später OUDEMANS u. RAUWENHOFF (3), LIEBIG (4), sowie SCHOOR (5) angeschlossen haben, wie die letzterwähnte Meinung ist nicht zutreffend, wie schon 1862 durch SCHULZ (6) nachgewiesen worden ist. Dagegen gelang es GOEBEL (7) in neuerer Zeit tatsächlich eine organische Säure, nämlich Ameisensäure, in der Kulturflüssigkeit von Lepidium und Hordeumkeimlingen aufzufinden, was ich vollständig bestätigt fand. Allein diese Ameisensäure stammt nicht von den Wurzelhaaren, welche vorzugsweise die Lackmusrötung hervorrufen, sondern von den sich abschülfernden Wurzelhaubenzellen und entsteht wohl durch sekundäre Zersetzungsprozesse. Auch scheint nicht freie Ameisensäure, sondern ein Alkalisalz derselben vorzuliegen. Wenn man die Wurzelhaare und die Wurzelspitze zwischen blauem Lackmuspapier zerdrückt, zeigt sich bei den ersteren eine deutlich stärker saure Reaktion. Wenn man die rotgefärbten Partien des Lackmuspapieres mikrochemisch untersucht, so ergibt sich sehr allgemein ein positiver Ausfall der Proben auf Kali und PO_4. So kam ich zur Ansicht, daß diese roten Flecken von Dihydrokaliumphosphat herrühren, welches in den Wurzelhaarmembranen zugegen ist. Aber auch in der Kulturflüssigkeit von Keimlingen, die frei in Wasser eintauchten, so daß Verletzungen der Wurzelhaare, wie sie beim Abnehmen der Wurzeln vom Lackmuspapier entstehen müssen, ausgeschlossen sind, kann man K und PO_4 nachweisen. Mit den Tröpfchen, welche man im feuchten Raume regelmäßig als Ausscheidung der Wurzelhaare beobachten kann, wurde allerdings keine saure Reaktion erhalten.

Man darf daran zweifeln, ob diese Versuche zur Lösung der Säurewirkung durch Wurzeln im Boden herangezogen werden können (8). Wenn man keimende Samen verwendet, so ist in der Wurzel sicher K und PO_4 im Überschuß vorhanden, da diese Stoffe reichlich aus dem Nährgewebe zuströmen. Versuche mit älteren Wurzelsystemen liegen aber nicht vor. Bezüglich solcher Wurzeln ist darauf aufmerksam zu machen, daß Beweise für Exosmose von Aschenstoffen, sobald die Außenlösung genügend verdünnt ist, vorliegen (9). Diese Erschei-

1) C. SPRENGEL, Lehre vom Dünger (1839), p. 23. — 2) J. B. BOUSSINGAULT, Die Landwirtsch. in ihrer Beziehung zur Chemie, dtsch. von GRAEGER, 2. Aufl. (1851), I, 24. — 3) A. C. OUDEMANS u. RAUWENHOFF, Linnaea, *30*, 220 (1859—60). — 4) LIEBIG, l. c., II, 7. Auch MERCADANTE u. COLOSI, Ber. chem. Ges., *8*, 442 (1875). — 5) W. K. SCHOOR, Just (1878), I, 547. — 6) M. SCHULZ, Journ. prakt. Chem., *87*, 129 (1862). — 7) GOEBEL, Pflanzenbiol. Schilderungen, II, 211 1891). Über die Bestimmung: CZAPEK, l. c., p. 335. A. LIEBEN, Sitz.ber. Wien. Ak., *102*, IIb, 717 (1893). — 8) Die Bestimmung der Acidität von Wurzelsäften wurde öfters von den Agrikulturchemikern zu diesem Zwecke herangezogen; vgl. KAPPEN, Landw. Vers.stat., *91*, 1 (1918); *93*, 135 (1919). Über die Bodensäure: MC INTIRE, Journ. Ind. Eng. Chem., *8*, 572 (1916). A. STUTZER, Fühlings landw. Ztg., *66*, 131 (1917). 9) P. MAZÉ, Compt. rend., *152*, 452 (1911). Ann. Inst. Pasteur, *25*, 706 (1912). R. H. TRUE u. H. BARTLETT, U. S. Dept. Agr. Bur. Plant. Industr. Bull. 231 (1912). J. POUGET u. D. SCHUSCHAK, Journ. Opitn. Agron., *13*, 823 (1912). Über die Säurebildung durch Wurzeln in Salzlösungen und Ionenadsorption: H. V. JOHNSON, Amer. Journ. of Bot., *2*, 250 (1915).

nung hat DELEANO (1) als „negative Wanderung" der Aschenstoffe beschrieben.

Übrigens soll sich nach MAZÉ (2), dessen Angaben von SCHULOW (3) bestätigt werden, in den Wurzelausscheidungen auch Zucker und Äpfelsäure finden. Zugunsten der Ansicht, daß organischen Säuren eine wesentliche Rolle bei der Aufschließung der Bodenbestandteile zukommt, äußern sich auch PFEIFFER und BLANCK (4).

Säurewirkungen können auch ohne Sekretion durch chemische Umsetzungen zustande kommen. Doch sind hierüber größtenteils noch die Sicherheiten durch physikochemische Tatsachen zu schaffen. Dies gilt vor allem von der wiederholt aufgestellten Behauptung, daß durch elektive Ionenaufnahme und Rückbleiben der Anionen von Mineralsalzen Säureeffekte verursacht werden. Auch in der Tierphysiologie stehen wir vor demselben Problem der Säurebildung (5). Ganz analog könnten durch Ionenadsorption Säurewirkungen erreicht werden. Von RAUTENBERG und KÜHN (6) ist angegeben, daß Wurzeln von Mais und Bohne in NH_4Cl-Lösung im Laufe einiger Tage saure Reaktion erzeugten; bei $(NH_4)_2SO_4$, Nitrat- und Phosphatdarreichung erfolgte keine Ansäuerung. In dieser Form ist das Resultat sicher nicht immer zutreffend. Für Ammoniumsulfat ist jedoch von verschiedenen Forschern (7) eine bestimmte aufschließende Wirkung, die kaum anders als durch Rückbleiben der Sulfationen zu verstehen ist, sehr wahrscheinlich gemacht worden. Ob nun diese „physiologisch-sauren Salze" durch direkte Vermittlung der Zelltätigkeit der Wurzeln oder durch Adsorbentien des Bodens oder durch andere Wege ihre Wirkung äußern, bleibt noch zu untersuchen. In den Bereich der in Rede stehenden Erscheinungen gehört es auch, daß in Schimmelpilzkulturen die mit Weinsäure angesäuert wurden, nach NÄGELI (8) die Reaktion neutral wird, bei Asparagin-Nährlösung sogar schwach alkalisch werden kann.

In der von KOHN (9) geäußerten Form dürfte die Theorie der Säurebildung durch Umsetzung im Substrate kaum aufrecht zu halten sein. Die ältere von LIEBIG und ZÖLLER (10), ferner von EMMERLING (11) über die Natur der Säurewirkung der Wurzeln im Boden läuft nur teilweise auf die Heranziehung chemischer Umsetzungen im Substrate hinaus, und setzt voraus, daß im Zellinhalte der Wurzelhaare eine saure Lösung vorhanden ist, welche im freien diosmotischen Austausche mit den Salzen des Bodens treten kann. Ist von dieser verdünnten schwach sauren Zellflüssigkeit ein verhältnismäßig großes Volumen in Aktion, so können mit der Zeit ansehnliche Mengen unlöslicher Bodensalze umgesetzt werden. Füllt man ein Trichterrohr mit Wasser, welchem einige Tropfen einer schwachen Säure zugesetzt wurden, und überbindet dasselbe mit feuchter

---

1) N. T. DELEANO, Inst. Bot. Univ. Genève (7), 9, (1907). Vgl. ferner: GREISENEGGER, u. VORBUCHNER, Öst.-Ung. Ztsch. Zuck.Ind. *47*, 82 (1918). — 2) P MAZÉ, Ann. Inst. Pasteur, *25*, 705 (1912). — 3) Iw. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *31*, 97 (1913). — 4) TH. PFEIFFER u. E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *77*, 217 (1912). — 5) Vgl. H. DANNEEL, Pflüg. Arch., *114*, 108 (1906). H. DRESER, Hofmeisters Beitr., *8*, 285 (1906). — 6) F. RAUTENBERG u. G. KÜHN, Landw. Vers.stat., *6*, 355 (1864). Vgl. VINES, Lectures on the Physiol. of Plants (1886), p. 55. — 7) R. PEROTTI, Atti Acc. Linc., (5), *17*, I, 448 (1908). K. ASO, Journ. Coll. Agr. Tokyo, *1*, Nr. 2, p. 223 (1909). Iw. SCHULOW, Ber. bot. Ges., *31*, 97 (1913). — 8) C. v. NÄGELI, Sitz.ber. kgl. bayr. Akad. München, 3. Mai 1879, p. 308. — 9) R. KOHN, Landw. Vers.stat., *52*, 315 (1899). Hierzu F. CZAPEK, Ebenda, p. 467. C. MONTANARI, Staz. Sper. Agr. Ital., *37*, 806 (1904). — 10) PH. ZÖLLER, Landw. Vers.stat., *5*, 40 (1863). SCHUMACHER, Ebenda, *4*, 270 (1862). — 11) A. EMMERLING, Ber. chem. Ges., *10*, 650 (1877).

Tierblase, so werden sehr bald nach Auflegen eines Stückchens Ca- oder Mg-Phosphat, $CaCO_3$ usw. die Reaktionen auf Ca, Mg, PO_4 in der Flüssigkeit im Rohr erhalten. Kann sich hierbei, wie bei der Diosmose von Oxalsäure gegen $CaCO_3$, ein unlösliches Salz bilden, so verlaufen die Vorgänge der Lösung besonders beschleunigt.

Es wurde bereits mehrfach auf die Möglichkeit hingewiesen, daß Bildung von Fettsäuren aus Kohlenhydraten und Eiweißstoffen durch Bodenmikroorganismen, wie in der Milchsäuregärung, Buttersäuregärung u. a. derartigen Prozessen, bei der Aufschließung unlöslicher Bodenmineralien eine wichtige Rolle spielt. Schon MULDER (1) deutete solche Eventualitäten allgemein an. Doch läßt sich die Tragweite dieser Vorgänge noch nicht genügend scharf beurteilen. Dabei können selbst die von der Wurzel abgestoßenen toten Zellen für Bacterien ein Nährsubstrat abgeben.

Aus dem Vorgeführten mag man ermessen, wie groß die Sicherheit ist, welche den Schlüssen zukommt, die man aus dem am Zellsafte der Wurzeln ermittelten Aciditätsgrad auf die Assimilierbarkeit unlöslichen Bodenbestandteile gezogen hat. Mit einer Säure von annähernd der gleichen Acidität (1 oder 2 % Citronensäure), 1 % HCl suchte man die Löslichkeit von Ca, Mg und besonders PO_4 des Bodens zu ermitteln (2). Nach WYATT (3) vermögen Pflanzen Ca und Mg noch aus Sand zu gewinnen, der mit starker Salzsäure extrahiert wurde. Die Ansicht, daß Eisensalze (Eisentartrat) die Hauptwirkung bei der Aufschließung der unlöslichen Bodenbestandteile ausüben, wie POULET (4) wollte, wird durch nichts bewiesen.

Nach MAZÉ (5) wäre es möglich, daß Gewächse, welche von Silicatboden stammen, bei einer Verpflanzung oder Ansaat auf Kalkboden, welcher eine viel geringere H -Konzentration der Bodenflüssigkeit besitzt, nicht genügend saure Wurzelsekrete besitzen, um hinreichende Mengen der unlöslichen Mineralbestandteile des Bodens sich zu erschließen. Da zu den letzteren auch das Eisen zählt, so kann es nach MAZÉ zu Erscheinungen der Chlorose auf diesem Wege kommen.

Zu gedenken ist auch der relativ wenig untersuchten Aufschließung von Silicatgesteinen durch Wurzeln, die theoretisch gleichfalls durch lange fortgesetzte Einwirkung der kohlensäuregesättigten Imbibitionsflüssigkeit der Wurzelhaar-Zellmembranen möglich ist. Die Kaolinisierung von Lavafelsen durch Wurzeln hat DE ANGELIS D'OSSAT (6) studiert; die Wirkung auf Sandstein findet sich bei BLANCK (7) behandelt.

Kommen nun andere „Wurzelausscheidungen" als Säuren bei der Aufschließung unlöslicher Bodenbestandteile und überhaupt für die Wirkung der Vegetation auf den Boden in Betracht? In älterer Zeit spielten die Wurzeln in ihrer Bedeutung als Ausscheidunsgorgane eine große Rolle. Es war 1768 zuerst der anonyme Verfasser (S. SIMON)

---

1) MULDER, Versuch. ein. physiol. Chemie (1844), p. 703. — 2) B. DYER, Journ. Chem. Soc. (1894), p. 115; A. D. HALL u. PLYMEN, Proc. Chem. Soc., *17*, 239 (1901); BERJU, Landw. Vers.stat., *55*, 19 (1901). SJOLLEMA, Chem.-Ztg., *25*, 311 (1901). A. D. HALL u. A. AMOS, Journ. Chem. Soc., *89*, 205; Proc. Chem. Soc., *22*, 11 (1906). Pflanzensäuren u. Phosphate: A. QUARTAROLI, Staz. Sper. Agr. Ital., *38*, 83 (1904); PFEIFFER, BLANCK, SIMMERMACHER u. RATHMANN, Landw. Vers.stat., *86*, 339 (1915). — 3) F. A. WYATT, Journ. Agr. Res. Washingt., *6*, 589 (1916). — 4) V. POULET, Compt. rend., *123*, 356 (1896). — 5) P. MAZÉ, RUOT u. LEMOIGNE, Compt. rend., *157*, 495 (1913). Ann. Inst. Pasteur, *27*, 1093 (1914). — 6) G. DE ANGELIS D'OSSAT, Atti Acc. Linc. Rom., (5), *19*, I, 154 (1910). — 7) E. BLANCK, Landw. Vers.stat., *77*, 129 (1912).

der Schrift „Des Jacinthes“, welcher solche Anschauungen äußerte. Später führte BRUGMANS (1) eingehend aus, wie besonders des Nachts durch die äußersten Enden der Würzelchen Säfte auströpfelten, welche den benachbarten Pflanzen teils schädlich, teils nützlich seien. Da bedeutende Männer, wie A. v. HUMBOLDT (2), sich dieser Theorie anschlossen, gewannen solche Ideen viel Verbreitung. SENEBIER (3) brachte die an den Wurzeln im feuchten Raume erscheinenden Tröpfchen mit der Ausscheidungslehre in Zusammenhang. Später vertraten PLENK (4) und ganz besonders MACAIRE PRINSEP (5) die Lehre von den Wurzelexkreten, ja GASPARRINI (6) wollte sogar gesehen haben, wie sich die Wurzelhaare durch einen Deckel öffnen, um das Sekret zu entleeren. Seit COTTA (7) taten zahlreiche Forscher, vor allem WALSER, MOHL, LINK, MEYEN (8) dar, daß die sogenannten „Wurzelausscheidungen“ vieler Autoren nur die in regressiver Metamorphose begriffenen, verquollenen, abgestoßenen Wurzelhaubenzellen waren, und die von BRUGMANS vermuteten „Feindschaften“ und „Freundschaften“ der Pflanzen sich bei näherer Beobachtung nicht bewahrheiten. Was sich über Exosmose und Endosmose an Wurzeln sagen läßt, hat bereits BOUSSINGAULT (9) zutreffend zusammengefaßt. Nun finden sich aber wertvolle Aschenstoffe mit organischen Substanzen zusammen in den pflanzlichen und tierischen Resten im Boden, welche im Humifikationsprozesse begriffen sind. Sind die Wurzeln der Phanerogamen imstande, sich diese Substanzen direkt durch aktive Wirkungen zugänglich zu machen, oder sind sie ganz auf die werktätige Mithilfe der Bodenbacterien und Pilze, auf die mikrobischen Mineralisierungsprozesse angewiesen? Es hat derzeit den Anschein, als ob vorwaltend letzteres der Fall wäre. MOLISCH (10) hat der Idee Ausdruck verliehen, daß die Pflanzenwurzeln oxydierende und reduzierende Wirkungen auf ihr Substrat ausüben, aber auch amylolytische und Invertasenwirkungen entfalten. Die als Kaliumpermanganatreduktion angegebene Braunfärbung der Wurzeloberfläche in sehr verdünnter $KMnO_4$-Lösung wurde schon von SACHS (11) beobachtet und richtig auf die Abwesenheit einer undurchlässigen Cuticula bei Wurzeln bezogen. Wahrscheinlich hängt diese Erscheinung teils mit der Produktion von Ameisensäure, dann aber überhaupt mit der Reaktion zwischen den Zell-

---

1) BRUGMANS, De mutata humorum in regno organico indole, 1786. Das oft wiederkehrende Zitat „De Lolio ejusdemque varia specie“ (1785) ist wohl auf HUMBOLDT zurückzuführen. Eine Schrift „De Lolio“ ließ sich nicht auffinden. Vgl. TREVIRANUS, Physiologie, II, 115. — 2) A. v. HUMBOLDT, Aphorismen a. d. chem. Physiol. d. Pflanzen (1794), p. 116. Vgl. jedoch p. 184 die Bemerkungen von HEDWIG. — 3) J. SENEBIER, Physiol. végét., I, 315. — 4) J. PLENK, Physiol. u. Pathol. d. Pfl. (1801), p. 67. — 5) MACAIRE PRINSEP, Ann. Chim. et Phys. (2), *52*, 225 (1833); Lieb. Ann., *8*, 78 (1833). DECANDOLLE, Physiologie, I, 218 (1833). CHATIN, Bot. Ztg. (1847), p. 782. — 6) GASPARRINI, Ebenda (1857), p. 773; Ricerche sulla Natura dei Succiatori (1856). — 7) H. COTTA, Naturbeobachtungen über Beweg. u. Funkt. d. Saftes (1806), p. 47. — 8) E. WALSER, Dissert. Tübingen (1838); MOHL, Pflanzenzelle, p. 96. LINK, Grundlehr. d. Anat. u. Physiol. (1807), p. 136; Flora (1848), p. 591; CAUVET, Ann. Sci. Nat. (4), *15*, 320 (1861); MEYEN, Neues Syst. d. Pfl.physiol., II, 525 (1838). MULDER, Physiol. Chem. (1844), p. 680. — 9) BOUSSINGAULT, Agronomie usw., V, 308. Daran kann auch vorläufig die Untersuchung von OSW. SCHREINER u. H. S REED, U. S. Dept. Agr. Bur. of Soils Bull., Nr. 40. Washington 1907, in der die Produktion toxischer Wurzelexkrete neuerdings behauptet wird, etwas ändern, da bestimmte Stoffe noch nicht isoliert worden sind. Kohle soll diese Giftstoffe adsorbieren: APPLEYARD, Intern. agr.techn. Rdsch., *6*, 1259. Vgl. auch MOLLIARD, Rev. gén. Bot., *27*, 289 (1915). — 10) H. MOLISCH, Sitz.ber. Wien. Ak., *96*, I, 85 (1887). — 11) J. SACHS, Landw. Vers.stat., *2*, 24 (1860).

membransubstanzen und dem Permanganat zusammen. Die von MOLISCH aufgefundene Bläuung von Guajacharzemulsion durch Wurzeln dürfte auf Oxydasen zurückzuführen sein; sie tritt nicht ein, wenn man auf das sorgfältigste Verletzungen der Wurzeln vermeidet (CZAPEK l. c. 1896). Das letztere gilt ebenso von den diastatischen, invertierenden und proteolytischen Wirkungen an der Wurzeloberfläche. Auch DUCLAUX (1) konnte hinsichtlich einer Enzymproduktion durch Wurzeln nur zu negativen Ergebnissen gelangen, während SCHREINER u. REED (2) die Anschauung, daß tatsächlich Oxydasensekretion durch die Wurzelhaare stattfinde, neuerlich vertreten haben.

Daß die von den Humusstoffen der Ackererde gebundenen Mineralstoffe besondere Bedeutung als Nährstoffe für die Wurzeln haben, hat EGGERTZ (3) angenommen, ohne völlig überzeugende Argumente hierfür beizubringen.

Ob die von TAVERNIER (4) an Citrus- und Punicawurzeln beobachteten „Ausscheidungen" von Gips und $CaCO_3$ normale Bildungen waren, ist mir zweifelhaft.

Eine Reihe wichtiger Wechselwirkungen zwischen Wurzel und Boden fällt außerhalb des engeren Rahmens der „Biochemie". Dahin gehören die mechanischen Wirkungen, welche die Wurzeln durch ihr Längen- und Dickenwachstum ausüben, und die imstande sind, Ritzen im festen Gestein zu erweitern, ja Felsen zu sprengen, und so die Kontaktfläche der Bodengesteine mit der umspülenden Flüssigkeit zu vergrößern. ATTERBERG (5) hat in einer interessanten Untersuchung gezeigt, welche Grenzen die Größe der Bodenkörner dem Eindringen der Wurzeln setzt. Für die Wurzelhaare von Weizen, Roggen und Gerste, deren mittlerer Durchmesser 8 μ beträgt, war das Eindringen zwischen die Bodenpartikel eben noch möglich, wenn deren Diameter 20—30 μ betrug.

Aber auch die Vermehrung der humusbildenden pflanzlichen Reste, welche durch ihren kolloiden Charakter dem Boden eine Reihe der allerwesentlichsten Eigenschaften verleihen, mit der hierdurch bedingten Ansiedelung von Bodenmikroben der verschiedensten Wirkungsart, gehört mit zu den Wirkungen der Vegetation auf den Boden, welche im Laufe der Zeit den Fels urbar machen. Das Gestein trocknet, von der dünnen Humusschicht bedeckt, nicht mehr völlig aus, wird fortdauernd an seiner Oberfläche ausgelaugt, die Bodenmikroben beteiligen sich selbst am Umsatz der gelösten Mineralstoffe. Die Untermischung mit organischen Kolloiden verleiht dem Boden seine Eigenschaften als „Humusboden": die wasserhaltende Kraft, die Fähigkeit Basen adsorbiert zu halten, und erhält dauernd die Möglichkeit einer guten gleichmäßigen Durchlüftung (6).

---

1) E. DUCLAUX, Compt. rend., *100*, 66 (1885). — 2) OSW. SCHREINER u. H. S. REED, U. S. Dept. Agr. Bur. of Soils. Bull., Nr. 56. Washington 1909). — 3) C. G. EGGERTZ, Chem. Zentr. (1889), I, 343. — 4) TAVERNIER, Bull. Soc. Bot. Fr., *37*, 48 (1890). Über Verkalkung bei Wurzeln: J. GRÜSS, Ber. deutsch. bot. Ges., *37*, 531 (1919). — 5) A. ATTERBERG, Koll.chem. Beihefte, *6*, 55 (1914). Die physikal. Verhältnisse der Mineralstoffaufnahme behandelt RAMANN, Landw. Vers.stat., *88*, 359 (1916). — 6) Bodenkolloide: P. EHRENBERG, Koll.ztsch., *3*, 193 (1909); Die Bodenkolloide, 2. Aufl, Dresden 1918. Bestimmung der äußeren Bodenoberfläche: E. A. MITSCHERLICH, SCHEFFLER u. FLOESS, Landw. Jahrb., *40*, 645 (1911); Feinheit und Nährstoffverteilung: PUCHNER, Landw. Vers.stat., *66*, 463 (1907); Humusbildung: S. SUZUKI, Bull. Coll. Agr. Tokyo, *7*, 95 (1906); Humus-PO_4: J. DUMONT, Compt. rend., *143*, 186 (1906); G. S. FRAPS, Amer. Chem. Journ., *39*, 579; Abspaltung von Mineralstoffen aus Pflanzenresten: S. KRAWKOW, Russ. Journ. exp. Landw., *9*, 569 (1909). Adsorption im Boden: F. K. CAMERON u. H. E. PATTEN, Journ. physic. Chem., *11*, 581 (1908); J. E. HARRIS, Ebenda, *18*, 355 (1914); TRUOG u SYKORA,

Alle diese Faktoren begünstigen ihrerseits wieder das Gedeihen der Wurzeln und deren aufschließende Tätigkeit, und so schließt sich dieser Kreis, der so reich an wechselvollen Erscheinungen uns eine unerschöpflich reiche Quelle der bedeutsamsten biologischen Probleme darstellt.

Anhang: Methodische Hinweise.

Es kann hier nicht unsere Aufgabe sein, die Methoden des Nachweises und der Bestimmung der Aschenstoffe pflanzlicher Materialien in extenso darzustellen. Begründet sind die meisten der bis zum heutigen Tage allgemein angewendeten Bestimmungsmethoden von LIEBIG selbst und seinen Schülern, welche den Anstoß dazu gaben, möglichst zahlreiche Erfahrungen über die Aschenbestandteile der Gewächse zu sammeln. Die trefflichen methodologischen Arbeiten von HEINTZ, ROSE, STRECKER, WILL und FRESENIUS (**1**), welche um das Jahr 1850 herum die Wissenschaft bereicherten, waren das beste Zeugnis dafür, auf wie fruchtbaren und wohlvorbereiteten Boden diese Anregungen fielen, und als Denkmal dieser Zeit mögen wir die Sammlung der vielen tausend Aschenanalysen ansehen, welche WOLFF in außerordentlich sorgfältiger Arbeit zusammengestellt hat und welche die Zeit bis 1880 umfassen.

Eine genaue Darstellung der Methoden findet man außer in den rein analytisch-chemischen Handbüchern u. a. in KONIGS Handbuch der Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe (**2**), ferner besonders auch in einer ausführlichen Arbeit von TOLLENS (**3**).

In den letzten Dezennien ist jedoch die Pflanzenphysiologie so bedeutend in ihren Fragestellungen und in ihren Verbindungen mit den übrigen physikalischen und biologischen Wissenschaften vorgeeilt, daß, wie in unseren Darlegungen immer wieder zu ersehen war, das angesammelte ältere Material

---

Internat. agr.techn. Rdsch., *8*, 987 (1917). PARKER, Journ. Agr. Res., *1*, 179 (1914). HISSINK, Chem. Weekbl., *15*, 517 (1918); Technol. Ges. Delft (1918), 129; Kultur, *31* (1920). Schutzwirk. v. Humussäuren: Sv. ODÉN, Journ. f. Landw., *67*, 177 (1919). Bodenlösung, Preßsaft: RAMANN, Internat. Mitteil. f. Bodenkunde, *6*, 1 (1916); EHRENBERG u. VAN ZYL, Internat. Mitteil. f. Bodenkunde, *7*, 141 (1918). Osmot. Druck d. Bodenlösung: TULAIKOFF, Ztsch. exp. Landw. Petersburg, *17*, 79 u. 122 (1916). Wasserstoffionenkonzentration: KAPPEN u. ZAPFE, Landw. Vers.stat., *90*, 321 (1917). MORSE, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 125 (1918). SHARP u. HOAGLAND, Journ. Agr. Res., *7*, 123 (1916). GILLESPIE u. WISE, Journ. Amer. Chem. Soc., *40*, 796 (1918). GILLESPIE, Journ. Wash. Acad. Sci., *6*, 7 (1916). Osmose im Boden: C. J. LYNDE, Ebenda, *16*, 759 (1913). LYNDE, Ebenda, p. 766; Feuchtigkeitskoeffizient: W. B. CRUMP, New Phytologist, *12*, 125 (1913). Kaliadsorption: BERTHELOT, Compt. rend., *141*, 1182 (1905); Kalk: E. BLANCK, Landw. Jahrb., *38*, 715 (1909); ebenda, p. 863; P. E. MÜLLER u. FR. WEIS, Naturw. Ztsch. Landw. u. Forstw., *5*, 51 (1907); D. PRIANISCHNIKOFF, Landw. Vers.stat., *79/80*, 667 (1913); G. WIEGNER, Journ. f. Landw., *60*, 111 (1912); W. THAER, Ebena, *59*, 107 (1911). Acidität des Bodens: R. ALBERT, Ztsch. angew. Chem., *22*, 553 (1909); O. LOEW, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr. (1909), p. 461. — Zusammenfassende Darstellungen: Methoden zur biochemischen Untersuchung des Bodens: J. STOKLASA, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *5*, II, 843 (1912). F. WAHNSCHAFFE u. F. SCHUCHT, Anleitung zur wissenschaftl. Bodenuntersuchung, 3. Aufl., Berlin 1914. E. J. RUSSELL, Boden u. Pflanze. Dtsch. von BREHM. Dresden 1914. RAMANN, Bodenbildung, Berlin 1918. WIEGNER, Boden u. Bodenbildung, Dresden (1918).

1) W. HEINTZ, Pogg. Ann., *72*, 113 (1847); H. ROSE, Ebenda, *70*, 449 (1847); *76*, 305, 324 (1849), *80*, 94 (1850); A. STRECKER, Lieb. Ann., *73*, 339 (1850).; H. WILL u. FRESENIUS, Ebenda, *50*, 363 (1844); W. KNOP, Journ. prakt. Chem., *38*, 14 (1846). — **2**) J. KÖNIG, Die Untersuchung landw. u. gewerbl. wichtiger Stoffe, 2. Aufl. (1898), p. 186. — **3**) B. TOLLENS, Journ. f. Landw., *50*, 231 (1902). H. ARON, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *1*, I, 372 (1909); G. LOCKEMANN, Ebenda, *5*, II, 1049 (1912).

modernen Ansprüchen nicht mehr genügt, zumal oft nur praktische Gesichtspunkte berücksichtigt wurden. Es wäre so ziemlich die ganze Arbeit noch einmal vorzunehmen, wenn die notwendige neue Basis gesichert werden soll. Auch sind die Methoden gegenwärtig so sehr in Umbildung begriffen, daß es in physiologischen Laboratorien kaum mehr statthaft ist, in jedem Falle schematisch den herkömmlichen Untersuchungsgang auf die Aschenstoffe anzuwenden. Es muß vielmehr als eines der ersten Erfordernisse jeder Arbeit bezeichnet werden, die geeigneten Methoden durch kritische Studien aufzufinden, bzw. dieselben den speziellen Zwecken anzupassen. Die Materialmenge bildet für die moderne Analyse, seit eine große Zahl von erprobten Mikromethoden zur Verfügung stehen, keine Grenze.

Dies bezieht sich schon auf die Zerstörung der organischen Substanz, welche nach den älteren Veraschungsverfahren wohl nie ohne Verluste nach irgend einer Richtung bewerkstelligt wird. Es fehlt nicht an vervollkommneten Veraschungsapparaten, z. B. die von WISLICENUS (1) angegebene Vorrichtung oder die elektrischen Veraschungsöfen. Doch wird es in zahlreichen Fällen von entschiedenem Vorteil sein, Säuren zur Zerstörung der organischen Stoffe anzuwenden, entweder die KJELDAHL-Mischung, oder das von NEUMANN (2) eingeführte konzentrierte Schwefelsäure-Salpetersäuregemisch, oder die Zerstörung der organischen Substanz mit konzentrierten HCl und $KClO_3$ nach FRESENIUS-BABO mit einem Zusatz von Antiformin zur Chlorentwicklung nach FRIEDMANN (3). Auch H_2SO_4 + Persulfat (CAROsche Säure) ist versucht worden (4). Das Verfahren von GROUVEN (5): Anwendung von überhitztem Wasserdampf bei 400—700° ist von Verlusten an organisch gebundenem Schwefel nicht frei. Für physiologische Analysen hat sich die Zerstörung der organischen Substanz mit konzentrierten Säuren weitgehend bewährt. Auf die vervollkommneten Verfahren zur Bestimmung der Gesamttrockensubstanz (6) braucht hier nur kurz hingewiesen zu werden.

Bei der Berechnung der einzelnen Aschenbestandteile entspricht dem heutigen Stande der Wissenschaft kein anderes Verfahren, als dieselben als Ionen anzuführen, was erst in wenigen Arbeiten geschehen ist. Die Methoden zur Aufsuchung der wichtigsten Aschenstoffe auf mikroskopischem Wege in pflanzlichen Geweben wurden, soweit sie physiologisch unentbehrliche Hilfsmittel sind, zumeist schon angeführt (7). Die nachfolgenden Bemerkungen mögen als Ergänzungen und Hinweise auf physiologisch verwendbare Methoden dienen, ohne Anspruch auf Vollständigkeit zu machen.

Alkalimetalle. Die älteren Methoden lassen für das Kali die Wägung als Chlorid oder Platindoppelchlorid, für das Natrium nur die Bestimmung

---

1) H. WISLICENUS, Ztsch. analyt. Chem., *40*, 441 (1901); G. M. TUCKER, Journ. f. Landw., *48*, 64 (1900); Veraschungsverfahren ohne Auslaugen der Kohle: K. STOLTE, Biochem. Ztsch., *35*, 104 (1911). — Glühverluste: ROBERTS, Analyst, *43*, 254 (1918); RATHER, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 439 (1918). — 2) A. NEUMANN, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 114 (1902); *43*, 32 (1904); Arch. f. (Anat.) u. Physiol. (1905), p. 208. E. S. WARSCHAWSKY, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 710. — 3) A. FRIEDMANN, Ztsch. physiol. Chem., *92*, 46 (1914). — 4) N. TARUGI, Gazz. chim. ital., *32*, II, 380 (1902); *34*, I, 324 (1904). Anwendung von Natriumperoxyd: H. PRINGSHEIM, Ber. chem. Ges., *41*, 4267 (1908). Ammoniumpersulfat + 10%ige H_2SO_4: DURET, Compt. rend., *167*, 129 (1918). Vgl. auch GREENWALD, Journ. Biol. Chem., *37*, 439 (1919). — 5) GROUVEN, Landw. Vers.stat., *28*, 343. Über physiologische Aschenanalysen und ihre Aufgaben auch DENNSTEDT u. RUMPF, Ztsch. physiol. Chem., *41*, 42 (1904). — 6) z. B. L. F. SHARKELL, Amer. Journ. Physiol., *24*, 325 (1909). Nachweis von Spuren Wasser: W. BILTZ, Ber. chem. Ges., *40*, 2182 (1907). — 7) Zusammenstellungen: H. MOLISCH, Mikrochemie der Pflanze. Jena 1913. p. 39; O. TUNMANN, Pflanzenmikrochemie. Berlin 1913, p. 66; A. B. MACALLUM, Ergebn. d. Physiol., *7*, 552 (1908). O. RICHTER, Ztsch. wiss. Mikrosk., *22*, 194 (1905).

als Chlorid zu. BOES (1) hat auch wieder eine neue Chloridmethode beschrieben. Schon lange Zeit wird angegeben, daß man gerade bei den Chloriden Verluste durch Verflüchtigung zu besorgen hat (2). Nach WOY (3) scheint jedoch der Verlust an Kali auf Rechnung einer Umsetzung zu Sulfat mit den Verbrennungsprodukten des Leuchtgases zu kommen. Kaliumchlorid läßt sich zur Bestimmung auch vorteilhaft in Carbonat (über das Oxalat) überführen (4) oder in das schwerlösliche Bitartrat (5). Geringe Mengen von NaCl lassen sich von KCl durch Auslaugen mit verdünntem Alkohol trennen, welcher das NaCl leichter löst (6).

Große Vorteile bietet die Anwendung der von DE KONINGK (7) angegebenen Kalireaktion. 10% $NaNO_2$ und etwas $CoCl_2$ mit Essigsäure angesäuert, gibt noch mit 0,1% KCl-Lösung einen gelben Niederschlag von Kaliumnatriumkobaltonitrit. CURTMAN (8) empfahl Natriumkobaltonitrit direkt als Kaliumreagens zu verwenden. Nach BJILMANN (9) kann man mit diesem Reagens noch in 10% Salzlösung 1 Äqu. Kali neben 4000 Äqu. Natron nachweisen. Zum mikrochemischen Kalinachweis ist nach MACALLUM (10) eine Nachbehandlung der Schnitte mit Ammoniumsulfid zur Verfeinerung der Methode zweckmäßig, wodurch man an Stelle der gelben Kobaltfällung einen schwarzen Niederschlag von CoS erhält. Doch besteht, wie bei allen derartigen Umsetzungsreaktionen die Gefahr, auch anderwärts im Präparate adsorbiertes Kobalt nachzuweisen, wo ursprünglich kein Kaliumkobaltnitritniederschlag gewesen war (11). Bei Acineta tuberosa fand MACALLUM die Kalisalze an den Pseudopodien bemerkenswerter Weise stets an den Stellen der geringsten Oberflächenspannung lokalisiert. Die Kobaltmethode ist auch als sehr brauchbare quantitative Kalibestimmung ausgearbeitet (12). AUTENRIETH und BERNHEIM (13) haben dieselbe zu physiologischen Zwecken adaptiert. Hier knüpft sich auch die aussichtsvolle Umbildung der volumetrischen Methoden durch HAMBURGER (14) an, dem es zuerst gelang, aus der Höhe eines bis zum konstanten Volum durch Centrifugieren gebrachten Niederschlagssäulchens eine genaue Bestimmung des Kaliums als Natriumkobaltonitritverbindung zu erreichen. Von MITSCHERLICH (15) rührt eine Permanganatmethode zur Bestimmung kleiner Kalimengen her. Bedeutung für

---

1) A. BOES, Apoth.-Ztg., *17*, 201 (1902); Zur Platinmethode: G. MEILLÈRE, Journ. Pharm. et Chim. (7), *7*, 281 (1913). L. GARNIER, Biochem. Zentr., *4*, Ref. Nr. 980. Trennung und Bestimmung von K und Na: HILL, Amer. Journ. Sci. Silliman (4), *40*, 75 (1915). RHUE, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 429 (1918). — 2) AUDOUARD, Journ. prakt. Chem., *2*, 275 (1834). — 3) WOY, Ztsch. öff. Chem.; *8*, 389 (1902). — 4) L. E. CAVAZZA, Chem. Zentr. (1910), I, 962. — 5) H. RECKLEBEN, Ztsch. angew. Chem., *26*, 375 (1913); FR. MARSHALL, Chem.-Ztg., *38*, 585 (1914). — 6) RÖTTGER-PRECHT, Ber. chem. Ges., *18*, 2076 (1885). BaBr statt $BaCl_2$: HÜTTNER, Kali, *12*, 178 (1918). Zur Geschichte der Kalibestimmung: VÜRTHEIM, Chem. Weekbl., *15*, 827 (1918). Modifizierte $PtCl_4$-Methode: BLUMENTHAL, Journ. Ind. Eng. Chem., *9*, 753 (1917). Physikal.chem. Methodik: DUBOUX, Compt. rend., *159*, 320 (1914). — 7) L. DE KONINGK, Ztsch. analyt. Chem., *20*, 390 (1881). — 8) O. CURTMAN, Ber. chem. Ges., *14*, 1951 (1881). — 9) E. BJILMANN, Ztsch. analyt. Chem., *39*, 284 (1900). L. T. BOWSER, Journ. Amer. Chem. Soc., *33*, 1566 (1911). — 10) A. B. MACALLUM, Journ. of Physiol., *32*, 95 (1905); Proc. Roy. Soc., *86*, B, 527 (1913). — 11) Über die Kritik der Lokalisation vgl. LIESEGANG, Ztsch. wiss. Mikr., *31*, 466 (1914). — 12) K. GILBERT, Dissert. Tübingen (1898); FR. H. MACDOUGALL, Journ. Amer. Chem. Soc., *34*, 1684 (1912); HORN VAN DEN BOS, Chem. Weekbl., *10*, 182 (1913); Titration: L. ZALESKI, Landw. Vers.stat., *83*, 221 (1913). BURGESS u. KAMM, Univ. of Illinois Bull., *10*, Nr. 36 (1913). HAFF u. SCHWARTZ, Journ. Ind. Eng. Chem., *9*, 785 (1917). — 13) W. AUTENRIETH u. R. BERNHEIM, Ztsch. physiol. Chem., *37*, 29 (1902). — 14) HAMBURGER, Biochem. Ztsch., *71*, 415 (1915); *74*, 414 (1916). Rec. trav. chim. Pays Bas, *35*, 225 (1915). — 15) E. A. MITSCHERLICH u. H. FISCHER, Landw. Vers.stat., *76*, 139 (1911); *78*, 75 (1912). Bestimmung von K in Cerealien: F. THOMPSON u. H. MORGAN jun., Journ. Ind. Eng. Chem., *3*, 398 (1911).

die Praxis haben ferner die Perchloratmethoden (1). Eine Kaliumbestimmungsmethode unter Benutzung der Säureaufschließung hat NEUBAUER (2) angegeben. Sie beruht auf der Trennbarkeit der Alkalisulfate von Mg, PO_4, Fe, Al durch gesättigte Ätzkalklösung. Alle diese Methoden sind zu pflanzenphysiologischen Zwecken noch sehr wenig benutzt worden. Als Kalireagens dient ferner Phosphorwolframsäure (3), nach ALVAREZ (4) amido-β-naphtholsulfosaures Natron (Eikonogen); zur Kalibestimmung auch die Persulfatmethode (5). Über eine Verfeinerung der bekannten Flammenfärbungsreaktion für Kali vgl. HERZOG (6). Zum Nachweise sehr kleiner Mengen von Alkalien und Säuren könnte die Anwendung von mit Lackmus gefärbten Coconfäden unter dem Mikroskop nach EMICH (7) Dienste in der Physiologie leisten. Zum Nachweise des Lithiums sind die Angaben von KRATZMANN (8) zu vergleichen.

Magnesia. Krystalle zum mikrochemischen Nachweise soll man nach POZZI-ESCOT (9) mit der Fällung als Phosphat ohne Ammoniakzusatz erhalten, doch ist die Reaktion nicht so empfindlich, wie in ammoniakalischer Lösung. Ammoniakalische Magnesiumsalzlösungen geben, mit mellithsaurem Ammonium eingedampft, nach POZZI-ESCOT schöne Krystalle von mellithsaurer Ammoniakmagnesia. Nach ROMIJN (10) ist es empfehlenswert, zum mikrochemischen Mg-Nachweise Citronensäure zuzusetzen, bevor man als Doppelphosphat fällt. Nur Gegenwart von viel Zink stört diese empfindliche Probe. Magnesia fällt mit Jodjodkali und verdünnter Natronlauge: Reaktion von SCHLAGDENHAUFFEN (11), rotbraune Flocken. Nach GRIMBERT kann man auch Jodkalium mit etwas Natriumhypochlorit als Reagens benutzen. Die Reaktion ist weniger empfindlich als die Tripelphosphatfällung. Zur quantitativen Mg-Bestimmung und Trennung von Alkalien eignen sich nach HERZ und DRUCKER (12) die Fällungen von Mg mit organischen Basen: Dimethylamin, Guanidin.

Zur Kalkbestimmung wurde von ARON (13) eine Methode ausgearbeitet unter Benutzung der Zerstörung der organischen Substanz nach

---

1) Vgl. PILZ, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *18*, 77 (1915). HAGER u. KERN, Landw. Vers.stat., *87*, 365 (1915). BAXTER u. KOBAYASHI, Journ. Amer. Chem. Soc., *39*, 249 (1917). GOOCH u. BLAKE, Silliman Journ. (4), *44*, 381 (1917). Mikrochemische Perchloratmethode: DENIGÈS, Ann. de Chim. appl., *22*, 103 (1917). — 2) H. NEUBAUER, Ztsch. analyt. Chem., *43*, 14 (1904). — 3) E. WÖRNER, Ber. pharm. Ges., *10*, 4 (1900); G. MEYER, Chem.-Ztg., *31*, 158 (1907). — 4) E. P. ALVAREZ, Chem. News, *91*, 146 (1905); Compt. rend., *140*, 1186 (1905). — 5) N. TARUGI, Gazz. chim. ital., *37*, I, 381 (1907). — 6) A. HERZOG, Chem.-Ztg., *42*, 145 (1918). — 7) F. EMICH, Monatsh. Chem., *22*, 670 (1901). — 8) E. KRATZMANN, Verh. zool.-bot. Ges., *64*, p. (67) (1914). Für Caesium und Rubidium vgl. ROBINSON, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 50 (1918). Mikrochem.: DENIGÈS, Ann. de Chim. appl., *22*, 103 (1917). — 9) E. POZZI-ESCOT, Chem. Zentr. (1901), I, 540 u. 1175. — 10) G. ROMIJN, Ztsch. analyt. Chem., *37*, 300 (1898). — 11) L. GRIMBERT, Journ. Pharm. et Chim. (6), *23*, 237 (1906); J. BELLIER, Ebenda, p. 378. — 12) W. HERZ u. DRUCKER, Ztsch. anorgan. Chem., *26*, 347 (1901). — Oxalatverfahren zur Trennung von Mg und Ca: W. C. BLASDALE, Journ. Amer. Chem. Soc. *31*, 917 (1909). Bestimmung sehr geringer Mg-Mengen: DIENES, Biochem. Ztsch., *95*, 131 (1919). — 13) H. ARON, Biochem. Ztsch., *4*, 268 (1907); S. GUTMANN, Ebenda, *58*, 470 (1914). R. HANSLIAN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *6*, 376 (1912). — Trennung von Ca, Mg und PO_4: FR. H. MAC DRUDDEN, Journ. biol. Chem., *10*, 187 (1911); W. C. BLASDALE, Journ. Amer. Chem. Soc., *31*, 917 (1909); M. PASSON, Ztsch. angew. Chem. (1898), p. 776; *14*, 285 (1901); CHR. A. PETERS, Chem. Zentr. (1901), II, 869. Bestimmung in Cerealien: F. THOMPSON u. MORGAN jun., Journ. Ind. Eng. Chem., *3*, 398 (1911). Kalkbestimmung: KUZIRIAN, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 1996 (1916). GROSSFELD, Ztsch. Unt. Nahr., *34*, 325 (1917). HALVERSON u. BERGEIM, Journ. Biol. Chem., *32*, 159. W. H. JANSEN, Ztsch. physiol. Chem., *101*, 176 (1918). DIENES, Biochem. Ztsch., *95*, 131 (1919). Mikrobestimmung: DE WAARD, Ebenda, *97*, 176 (1919); ebenda, p. 186.

Neumann mit HNO_3 und H_2SO_4 und Abscheidung des Sulfates durch Alkohol. Über mikrochemische Unterscheidung von Aragonit und Calcit wurde schon p. 355 berichtet (**1**). Als qualitative Ca-Probe ist auch die gelbgrüne Fällung mit Ferrocyankalium in ammoniakalischer Lösung zu verwenden (**2**).

Tonerde läßt sich nach Kratzmann (**3**) vorteilhaft in der Fällung als Caesiumalaun mikrochemisch nachweisen. Rathgen (**4**) benutzte zu petrographischen Zwecken Ammoniumfluorid mit Zusatz von etwas H_2SO_4. Tonerde bildet mit Alizarin S (rot) ein purpurrotes Salz (**5**). Zur Tonerdebestimmung wären die Angaben von Pellet und Fribourg sowie von Hare zu vergleichen (**6**).

Auch zur Eisenbestimmung wurde das Neumannsche Verfahren der Säureveraschung herangezogen, doch fand Fendler (**7**) diese Methodik nicht exakt. Unter den verschiedenen analytischen Fe-Bestimmungsmethoden finden sich einige colorimetrische, welche möglicherweise physiologischen Aufgaben entsprechen könnten (**8**). Zur Aufschließung organischer Substanzen schlug Salkowski (**9**) Schmelzen mit KNO_3-Mischung vor, wobei das Gesamteisen in Fe_2O_3 übergeführt wird. — Ferrosalze geben mit etwas Weinsäure und alkoholischer Lösung von Dimethylglyoxim versetzt, dann mit NH_3 übersättigt, eine Rotfärbung, die mit der Oxydation des $Fe^{\cdot\cdot}$ verschwindet: Slawik (**10**).

Zur Bestimmung kleiner Manganmengen kann man nach Marshall (**11**) das gesamte Mangan durch Erhitzen mit Ammoniumpersulfat als Superoxyd abscheiden. In Gegenwart von etwas Silbersalz findet aber Bildung von Permanganat statt, durch dessen Färbung sich noch 0,001 mg Mangan in ½ ccm Flüssigkeit nachweisen läßt. Violettfärbung entsteht mit PbO_2 und HNO_3 bei Gegenwart kleiner Manganmengen (**12**). Duyk (**13**)

---

1) Aragonit: St. Kreutz, Tschermaks min. u. petr. Mitteil. (2), *28*, 487 (1910). Mikrochemische Calcit-Untersuchung: St. J. Thugutt, Ztsch. Kryst., *54*, 197 (1914). Metallfärbung verkalkter Gewebe: Stoeltzner, Ztsch. wiss. Mikr., *22*, 545 (1906). Calcit u. Aragonit: Skinder, Arch. géol. et min. Russ., *15*, 189 (1914). Quercigh, Atti Accad. Linc. (5), *24*, I, 1231 (1915). Vitalfärbung mit Alizarin: Gottlieb, Anatom. Anzeig., *46*, 179 (1914). Mikrochemische Fällung mit Alkalien: Molisch, Ber. bot. Ges., *34*, 288 u. 357 (1916). — **2**) F. Flanders, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 1509 (1906); H. Baubigny, Compt. rend., *144*, 1342 (1907). — **3**) E. Kratzmann, Sitz.ber. Wien. Ak., I, *122*, 311 (1913); Pharm. Post, *47*, 101 (1914). Verhandl. zoolog. bot. Ges., *64*, p. (67) (1914). — **4**) F. Rathgen, Ztsch. analyt. Chem., *53*, 33 (1914). — **5**) Vgl. Atack, Journ. Soc. Chem. Ind., *34*, 936 (1915). — **6**) H. Pellet u. C. Fribourg, Chem. Zentr. (1905), II, 1187; R. F. Hare, Journ. Ind. Eng. Chem., *2*, 27 (1910); Berg, Chem.-Ztg., *41*, 50 (1917). — **7**) G. Fendler, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 279 (1914); Fr. Jahn, Ebenda, *75*, 308 (1911). R. Hanslian, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *6*, 376 (1912). — **8**) A. Mouneyrat, Compt. rend., *142*, 1049, 1572 (1906); Soc. Biol., *60*, 768, 811 (1906). Compt. rend., *144*, 1067 (1907); W. K. Marriott u. Wolf, Journ. biol. Chem., *1*, 451 (1907). Zur Eisenbestimmung ferner: C. A. Socin, Ztsch. physiol. Chem., *15*, 93 (1890). F. Röhmann u. F. Steinitz, Ztsch. analyt. Chem., *38*, 433 (1899); B. Moreau, Morel u. Gautier, Soc. Biol., *62*, 61 (1907); R. F. Hare, Journ. Ind. Eng. Chem., *2*, 27 (1910). R. Adan, Biochem. Zentr., *5*, Ref. Nr. 281 (1906). — **9**) E. Salkowski, Ztsch. physiol. Chem., *83*, 143 (1913). — **10**) P. Slawik, Chem.-Ztg., *36*, 54 (1912). Kritik des mikrochemischen Eisennachweises: A. Wiener, Biochem. Ztsch., *77*, 27 (1916). Bestimmung geringer Eisenmengen: Berg, Chem.-Ztg., *41*, 50 (1917). Gonnermann, Biochem. Ztsch., *95*, 286 (1919). Eisenfärbung in den Geweben mit Alizarinrot: Mawas, Compt. rend. Soc. Biol., *82*, 78 (1919). — **11**) H. Marshall, Chem. News, *83*, 76 (1901); Chem. Zentr. (1901), I, 705. P. Pichard, Compt. rend., *126*, 550 (1898); D. Vitali, Chem. Zentr. (1898), II 942; J. Gössl, Beihefte bot. Zentr., *18*, I, 121 (1904). Hermans, Pharm. Weekbl., *56*, 1344 (1919). — **12**) N. Tarugi, Gazz. chim. ital., *36*, I, 332 (1906). Dobbin, Chem. News, *113*, 133 (1916). — **13**) Duyk, Ann. Chim. analyt. appl., *12*, 465 (1907).

benutzte die Permanganatbildung mit Alkali, Natriumhypochlorit und $CuSO_4$ zum Nachweise von Manganspuren. BERTRAND (1) bediente sich der Persulfatoxydation nach Lösung in HNO_3 und Entfernung von Kohle und Chloriden; dann läßt sich das Permanganat colorimetrisch bestimmen, Manganhaltige Aschen von Pflanzen sind an der grünen Färbung kenntlich (2) In neutraler oder schwach saurer Lösung geben Mangansalze mit Kaliumchromat dunkelbraune Krystalle einer Doppelverbindung, was WAGENAAR (3) zum mikrochemischen Nachweise von Mn heranzog.

Zum Nachweise von Nickel gebrauchte TSCHUGAEFF (4) den roten Niederschlag, welcher nach Versetzen nickelhaltiger Lösungen mit Natriumacetat, Zusatz von α-Dimethylglyoxim in Pulverform und Kochen entsteht. Nickelmolybdat ist nach POZZI-ESCOT (5) im Gegensatze zu Kobaltmolybdat unlöslich in neutraler Lösung von Alkalimolybdat.

Zum Zinknachweise sei nochmals auf die Arbeiten von BERTRAND und JAVILLIER (6) und WEITZEL (7) verwiesen. NEUMANN (8) schied kleine Zinkmengen elektrolytisch ab. — Zinkurat gibt nach GANASSINI (9) eine grünblaue Färbung mit Cl- oder Br-Gas.

Beim Nachweise von Kupferspuren kommt nur die elektrolytische Ausfällung des Kupfers in Betracht (10). Sehr empfindlich zum Cu-Nachweise ist nach UHLENHUTH (11) die starke Blaufärbung mit alkalischer Lösung von (1,2) Diaminoanthrachinon-3-sulfosäure. Sie läßt sich durch Ammoniak verstärken und auch für Nickel und Kobalt anwenden (12). Ein sehr empfindliches Reagens auf Cu ist Aminocapronsäure (13). Ortho-nitrosophenol in Petroläther gibt beim Schütteln mit Cu-hältigen Lösungen eine leuchtend rote Färbung (14). BRADLEY (15) benützte zum Kupfernachweise die Blaufärbung mit Blauholzhämatoxylin. Zink läßt sich nach demselben Autor als Nitroprussidverbindung mikrochemisch nachweisen.

Zum Nachweise von Blei in organischem Material benutzt ERLENMEYER (16) die Sulfatfällung und Trennung der Sulfate von Pb und Ca mittels Ammoniumacetat.

Phosphorsäure. Den früher gegebenen Daten sei noch hinzugefügt, daß auch JOLLY (17) in (tierischen) Geweben mit Hilfe der Molybdat-HNO_3-Methode den Nachweis von organisch gepaarter Phosphorsäure geführt hat. Zur quantitativen Trennung der organischen P-Verbindungen von den

---

1) G. BERTRAND, Bull. Soc. Chim. (4), *9*, 361 (1911). — Bestimmung von Mn im Boden: R. A. GORTNER u. ROST, Journ. Ind. Eng. Chem., *4*, 522 (1912); M. J. STRITAR, Ztsch. analyt. Chem., *52*, 337 (1913). — 2) B. HAFNER u. J. KRIST, Ztsch. allg. österr. Apoth. Ver., *61*, 387 (1907). — 3) M. WAGENAAR, Pharm. Weekbl., *49*, 14 (1912). Ferner über Mn-Bestimmung: SACHER, Chem.-Ztg., *39*, 319 (1915). Mikrochemische Probe mit Cyanursäure in ammon. Lösung: MENKE, Chem. Weekbl., *15*, 868 (1918). Reaktion mit Alkalioxalat: CARON u. RAQUET, Ann. Chim. anal. appl. (2), *1*, 174 (1919). — 4) L. TSCHUGAEFF, Ber. chem. Ges., *38*, 2520 (1905). — 5) E. POZZI-ESCOT, Compt. rend., *145*, 435 (1907). Reaktion mit Diamidoanthrachinonsulfonsäure auf Cu, Co u. Ni: MALATESTA, Boll. farm. chim., *22*, 319 u. *23*. Vgl. auch J. KOPPEL, Naturwiss., 1917, p. 730. — 6) G. BERTRAND u. M. JAVILLIER, Compt. rend., *145*, 924 (1907). — 7) A. WEITZEL, Arbeit. Reichsgesundh.amt, *51*, 476 (1919). 8) W. NEUMANN, Ztsch. Elektrochem., *13*, 751 (1907). — 9) GANASSINI, Soc. Med. Chir. Pavia, 29. Jan. 1909. — 10) B. GUÉRITHAULT, Bull. Sci. Pharm., *18*, 633 (1912); PRITZ, GUILLAUDEU u. WITHDROW, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 168 (1913); E. B. PHELPS, Ebenda, *28*, 368 (1906). — 11) R. UHLENHUTH, Chem.-Ztg., *34*, 887 (1910). — 12) GIU. MALATESTA u. DI NOLA, Boll. Chim. Farm., *52*, 819 (1914). — 13) LYLE, CURTMAN u. MARSHALL, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1471 (1915). — 14) O. BAUDISCH, Ber. dtsch. chem. Ges., *51*, 1058 (1918). — 15) H. C. BRADLEY, Amer. Journ. Sci. (4), *22*, 326 (1906). REBELLO-ALVES u. BENEDICENTI, Arch. Farm. sper., *24*, 50 (1917). — 16) E. ERLENMEYER, Biochem. Ztsch., *56*, 330 (1913). — 17) L. JOLLY, Compt. rend., *125*, 538 (1897).

Phosphaten in Futtermitteln sind die Untersuchungen von FINGERLING und HECKING (1) zu vergleichen. Durch Extraktion mit HCl-Alkohol kann man nach COLLISON (2) eine befriedigende Trennung der anorganischen PO_4 von Phytaten erreichen. ULRICH (3) machte aber auf die Schwierigkeiten aufmerksam, welche der quantitativen Extraktion der wasserlöslichen PO_4 aus Pflanzenmaterial im Wege stehen.

Nach BEHRENS (4) kann man mit Hilfe der Molybdatreaktion mikrochemisch noch 0,000015 mg PO_4 nachweisen. Daß das Prinzip der LILIENFELD-MONTIschen Methode (Umsetzung des PO_4-Niederschlages mit Schwefelammonium) unrichtig ist, wurde bereits hervorgehoben (5). SCOTT empfahl als Reagens 10 %iges Ammoniummolybdat 80 ccm, HCl 12 ccm, konzentriertes Ammoniumpersulfat 10 ccm und NH_4Cl 20 g. BONGIOVANNI (6) versuchte nach der Molybdatbehandlung die Färbung durch Erzeugung von Molybdänrhodanat als Hilfsmittel zu verwenden. Nach Reduktion mit $SnCl_2$ nehmen die Globoide der Aleuronkörner eine rotviolette Färbung an.

Eine ausgezeichnete Darlegung und Kritik der modernen Methoden zur Makro- und Mikrobestimmung der Phosphorsäure gab vor kurzem KLEINMANN (7), auf die vor allem verwiesen werden soll.

Zur quantitativen PO_4-Bestimmung läßt sich die Molybdatfällung sehr allgemein anwenden; man nimmt gegenwärtig die Fällung gewöhnlich in Gegenwart von Ammoniumcitrat vor: „Citratmethode", bezüglich welcher auf die Handbücher der analytischen Chemie verwiesen werden darf (8). Bei Extrakten läßt die Molybdatfällung ohne weiteres befriedigende Resultate gewinnen. Ein großer Vorteil der Methode liegt darin, daß ein relativ geringer Gewichtsanteil des Niederschlages auf P entfällt. Große Schärfe gestattet ein Zusatz von Strychninnitrat zum Molybdat und Konstatierung des Überschusses mit HNO_3. Größere Schwierigkeiten entstehen bei der Bestimmung der Gesamt-PO_4 durch Veraschen, weil bei dem zur Verhütung von Zersetzungen angewendeten Zusatze von K_2CO_3 während des Glühens teilweise Pyrophosphorsäure entsteht, die erst durch Kochen mit HNO_3 in H_3PO_4 zurückgeführt werden kann. Vorschläge zur Vermeidung der dadurch entstehenden Fehler hat RIEGER (9) gegeben. Besonders bei der Phosphorsäure-

---

1) G. FINGERLING u. A. HECKING, Biochem. Ztsch., *37*, 452 (1911). — 2) R. C. COLLISON, Journ. Biol. Chem., *12*, 65 (1912); Journ. Ind. Eng. Chem., *4*, 606 (1912). — 3) H. ULRICH, Arch. exp. Pathol., *68*, 171 (1912). — Quantitative Bestimmung von Extrakt- und Protein-PO_4: W. KOCH, Journ. Biol. Chem., *3*, 159 (1907). — 4) H. BEHRENS, Ztsch. analyt. Chem., *30*, 125 (1891). — 5) F. H. SCOTT, Journ. of Physiol., *35*, 119 (1906); A. ARCANGELI, Gazz. chim. ital., *37*, II, 148 (1907); R. E. LIESEGANG, Chem.-Ztg., *34*, 1158 (1910). — 6) C. BONGIOVANNI, Staz. Sper. Agr. Ital., *42*, 116 (1908). — 7) H. KLEINMANN, Biochem. Ztsch., *99*, (1919). FEIGL, Ebenda, *102*, 131 (1920); IVERSEN, Ebenda, *104*, 15 u. 22 (1920). — 8) Hierzu ferner: B. SCHMITZ, Ztsch. analyt. Chem., *45*, 512 (1906); J. BAY, Compt. rend., *146*, 814 (1908); P. CHRISTENSEN, Ztsch. analyt. Chem., *47*, 529 (1908). A. GRETE, Ber. chem. Ges., *42*, 3106 (1909); G. MADERNA, Acc. Linc. Roma, *19*, I, 827 (1910); F. HAUSSDING, Landw. Jahrb. (1913), p. 119; W. HEUBNER, Biochem. Ztsch., *64*, 401 (1914); A. E TAYLOR u. C. W. MILLER, Journ. biol. Chem., *18*, 215 (1914). FALK u. SUGIURA, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1507 (1915). STUTZER u. HAUPT, Journ. f. Landw., *63*, 46 (1915). TAYLOR u. MILLER, Journ. Biol. Chem., *21*, 255 (1915). GROSSFELD, Ztsch. analyt. Chem., *57*, 28 (1917). VILLIERS, Bull. Soc. Chim. (4), *23*, 305 (1918). RAPER, Biochem. Journ., *8*, 649 (1915). Eisencitratmethode: ZACHARIADES u. CZAK, Ztsch. landw. Vers.wes. Österr., *18*, 472 (1915). CELICHOWSKI u. PILZ, Ebenda, p. 581. Citro-Uranmethode: CRISPO u. TUINZING, Landw. Vers.stat., *88*, 131 (1916). PO_4-Bestimmung in Böden: MILLAR u. GANGLER, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 619 (1915). ROBINSON, Ebenda, *8*, 148 (1916). — 9) F. RIEGER, Ztsch. physiol. Chem., *34*, 109 (1901). — Zur Veraschungsmethode: H. PELLET, Bull. Assoc. Chim. Sucr., *26*, 1145 (1909); A. PONTE, Staz. Sper. Agr. Ital., *44*, 459 (1911); Ann. Staz. Sper. Agr. Rom., *4*, 143 (1910). Zur

bestimmung empfiehlt es sich, die Zersetzung der organischen Substanz mit konzentrierter Säure, KJELDAHL-Säure oder $H_2SO_4 + HNO_3$, vorzunehmen, und wie NEUMANN (1) gezeigt hat, erhält man auf diese Weise sehr genaue Ergebnisse. Nach LEMOULT (2) ergibt die Verbrennung in der Calorimeterbombe mit komprimiertem Sauerstoff gute Resultate bei der PO_4-Bestimmung. GIBSON und ESTES (3) beschrieben eine colorimetrische PO_4-Bestimmung mit Uranacetat und Kaliumferrocyanid. PASSERINI (4) begründet seine colorimetrische Methode auf die orangerote Färbung von Molybdat mit Gallussäure. — Bezüglich der Trennung von Phosphorsäureestern von Säurephosphaten sei auf die Angaben von HART und ANDREWS (5) verwiesen. Über Bestimmung von phosphoriger und unterphosphoriger Säure vgl. EHRENFELD und KULKA (6). Substanzen, welche Phosphorreaktionen geben, lassen sich nach FISCHER (7) aus phosphorhaltigen organischen Substanzen nicht abspalten.

Hinsichtlich Nachweis und Bestimmung von sehr kleinen Arsenmengen sei hier noch auf die Untersuchung von KLASON (8) hingewiesen. Zum mikrochemischen Arsennachweis empfahl DENIGÈS (9) ein Gemisch von Mercuronitrat und Salpetersäure unter Überführung in As_2O_5.

Schwefel. Die zu biochemischen Zwecken nötigen Methoden zum qualitativen Nachweise und zur quantitativen Bestimmung des Gesamtschwefels hatten seit den grundlegenden Arbeiten von HEINTZ (10) lange Zeit geringe Ausbildung erfahren. Unbefriedigend sind noch immer die Methoden zur Bestimmung der verschiedenen Formen, in denen Schwefelverbindungen im Organismus vorkommen. Zu den bekannten S-Reaktionen, welche zum qualitativen, auch mikrochemischen Nachweise von Schwefel-

---

Bestimmung als Mg-Pyrophosphat: JONES, Journ. Biol. Chem., *25*, 87; CHRISTIE, Journ. Ind. Eng. Chem., *8*, 511 (1916); BALAREW, Ztsch. anorg. Chem., *101*, 229 (1917); *102*, 241 (1918); *103*, 73 (1918); *104*, 53 (1918). HEIDENHAIN, Journ. Ind. Eng. Chem., *10*, 426 (1918). WINKLER, Ztsch. angew. Chem., *32*, 99 (1919). Bestimmung der PO_4 in Futtermitteln: CHAPIN u. POWICK, Journ. Biol. Chem., *20*, 97 (1915).a Düngemittel: HUNT, Journ. Ind. Eng. Chem., *8*, 251 (1916); VORTMANN, Ztsch. analyt. Chem., *56*, 465 (1917). Trinkwasser: MEDINGER, Chem.-Ztg., *39*, 781 (1915).

1) A. NEUMANN, Arch. Anat. u. Physiol. (1900), p. 159; GAROLA, Chem. Zentr. (1896), II, 597; H. SCHAUMANN, Ztsch. analyt. Chem., *48*, 612 (1909). L. VUAFLART, Bull. Ass. Chim. Sucr., *27*, 454 (1909); C. G. L. WOLF u. E. ÖSTERBERG, Biochem. Ztsch., *29*, 429 (1910); J. P. GREGERSEN, Ztsch. physiol. Chem., *53*, 453 (1907). Ferner: ZLATAROFF, Biochem. Ztsch., *76*, 218 (1916). JODIDI, Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1708 (1915). Journ. Franklin Inst., *180*, 349 (1915). SCHAUMANN, Abderhaldens Handb. biochem. Arb.meth., *9*, 617 (1919). — 2) P. LEMOULT, Compt. rend., *149*, 511 (1909). — 3) R. B. GIBSON u. CL. ESTES, Journ. Biol. Chem., *6*, 349 (1909). — Urantitrimetrische Bestimmung: A. VOZARIK, Ztsch. physiol. Chem., *76*, 426, 433 (1912). — 4) N. PASSERINI, ref. Bot. Zentr., *126*, 461 (1913). — 5) E. HART u. W. H. ANDREWS, Amer. Chem. Journ., *30*, 470 (1903). — 6) R. EHRENFELD u. W. KULKA, Ztsch. physiol. Chem., *63*, 315 (1909). — 7) AUG. FISCHER, Pflüg Arch., *97*, 578 (1903). — 8) P. KLASON, Arkiv f. Kemi, *5*, Heft 9 (1913). — Ferner N. TARUGI, u. BIGAZZI, Gazz. chim. ital., *36*, I, 359 (1906); J. A. GOODE u. PERKIN, Journ. Soc. Chem. Ind., *25*, 507 (1906); H. LITTLE, CAHEN u. MORGAN, Journ. Chem. Soc., *95*, 1477 (1909). G. LOCKEMANN, Biochem. Ztsch., *35*, 478 (1911); C. E. CARLSON, Ztsch. physiol. Chem., *68*, 243 (1910); A. C. VOURNASOS, Ber. chem. Ges., *43*, 2269 (1910); L. MOREAU u. E. VINET, Compt. rend., *158*, 869 (1914). M. VINOGRAD, Journ. Amer. Chem. Soc., *36*, 1548 (1914); L. VANINO u. F. HARTWAGNER, Arch. Pharm., *252*, 381 (1914); BULYGHIN, Chem. Zentr., 1915, I, 1341; BECK u. MERRES, Arb. kais. Gesundh.amt, *50*, 38 (1915); KOSIAN, Pharm. Post, *48*, 321 (1915); GAUTIER u. CLAUSMANN, Compt. rend., *165*, 11 (1917); SIEBURG, Abderhaldens biochem. Arb.meth., *9*, 148 (1919); BILLETER, Helvet. Act. chim., *1*, 475 (1918); W. VON RIJN, Pharm. Weekbl., *56*, 1072 (1919). — 9) G. DENIGÈS, Compt. rend., *147*, 744 (1908). — 10) W. HEINTZ, Pogg. Ann., *85*, 424 (1852).

verbindungen dienen (von denen die PbS-Reaktion, sowie die Nitroprussidnatriumprobe am häufigsten verwendet werden), kann noch die von BRUNNER (**1**) angegebene Reaktion kommen. S- oder sulfidhaltige Proben geben nach längerem Stehen mit starker Alkalilauge und Zufügen von Nitrobenzol und etwas Alkohol eine rötliche Farbe. Zum mikrochemischen Schwefelnachweis empfahl EMICH (**2**) die Präparate mit Calciumchloridlösung zu benetzen und sie Bromdämpfen auszusetzen; es entstehen Gipsnadeln bei Gegenwart von Schwefelverbindungen. Bei der gewöhnlichen Veraschungsmethode ist es unmöglich, brauchbare Schwefelbestimmungen zu erhalten, weil große Verluste durch Entweichen von SO_2 stattfinden. Besser ist es, die Veraschung in Gegenwart von Calciumacetat [FRAPS (**3**)] oder $Ca(NO_3)_2$ und CaO [KONINGK (**4**)] vorzunehmen; noch genauer werden die Resultate, wenn man Soda und Na_2O_2 zufügt [HOEHNEL-GLASER, v. ASBOTH (**5**)] und man kann nach MODRAKOWSKI (**6**) die Oxydation schon vor dem Veraschen beginnen und die Veraschung unter weiterem Zusatze von Na_2O_2 zu Ende führen (Harn). Das Erhitzen ist mittelst Spiritusflamme oder elektrischer Heizung zu bewerkstelligen. Die beste derartige Methode zur Schwefelbestimmung ist nach BARLOW (**7**) die nach BERTHELOT und ANDRÉ (**8**) ausgeführte Verbrennung, welche BARLOW einigen Modifikationen unterzogen hat. Alle Methoden laufen darauf hinaus, den Gesamtschwefel ohne Verlust zu SO_4 zu oxydieren und die SO_4 durch Cl_2Ba zu fällen. SILBERBERGER (**9**) findet Vorteile, die Fällung mit $SrCl_2$ in alkoholischer Lösung auszuführen. KLOBUKOW (**10**) beschrieb eine maßanalytische Schwefelbestimmungsmethode, bei welcher das Sulfat mit H_2 i. stat. nasc. zu H_2S reduziert und letzterer jodometrisch bestimmt wird. Auch für die Schwefelbestimmung ist das Säureveraschungsverfahren mit rauchender HNO_3, $Cu(NO_3)_2$ und $KClO_3$ angewendet worden (**11**). Gute Resultate liefert die Zerstörung der organischen Substanz durch Hydroperoxyd (**12**). Auch für die Sulfatbestimmung besitzen wir in der durch HAMBURGER (**13**) ausgebildeten mikrovolumetrischen Methode ein ausgezeichnetes Hilfsmittel, das es ermöglicht, S-Bestimmungen in geringen Materialmengen sehr rasch durchzuführen.

Zum Kieselsäure-Nachweise wären noch die Angaben von SALKOWSKI (**14**) zu vergleichen.

---

1) TH. BRUNNER, Ztsch. analyt. Chem., *20*, 390 (1881). — **2**) F. EMICH, Ebenda, *32*, 163 (1893); Bot. Zentr., *55*, 299 (1893). — **3**) G. S. FRAPS, Journ. Amer. Chem. Soc., *24*, 346 (1902). — **4**) L. DE KONINCK u. NIHOUL, Chem. Zentr. (1894), II, 343. HALVERSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *41*, 1491 (1919). — **5**) GLASER, Chem.-Ztg. (1894), p. 1448; v. ASBOTH, Ebenda, *19*, 2040 (1895); A. NEUMANN und J. MEINERTZ, Ztsch. physiol. Chem., *43*, 36 (1904). — **6**) G. MODRAKOWSKI, Ebenda, *38*, 562 (1903). — **7**) W. E. BARLOW u. TOLLENS, Journ. Landw., *51*, 289 (1903); BARLOW, Journ. Amer. Chem. Soc., *26*, 341 (1904). — **8**) BERTHELOT u. ANDRÉ, Compt. rend., *105*, 1217 (1887); *128*, 17 (1899). — **9**) SILBERBERGER, Ber. chem. Ges., *36*, 2755 (1903). — **10**) KLOBUKOW, Ebenda, *18*, 1861 (1885). — **11**) C. G. L. WOLF u. E. ÖSTERBERG, Biochem. Ztsch., *29*, 429 (1910). — Sulfatbestimmung: G. BRUHNS, Ztsch. analyt. Chem., *45*, 573 (1906); O. FOLIN, Journ. Biol. Chem., *1*, 131 (1906); H. SCHREIBER, Journ. Amer. Chem. Soc., *32*, 977 (1910). A. R. THOMPSON, Ebenda, *35*, 1628 (1913). Verbrennung mit HNO_3: KRIEGER, Chem.-Ztg., *39*, 22 (1915). LEVI, Ann. di chim. appl., *2*, I, 9 (1914). Kritik: FEDERER, Ztsch. physiol. Chem., *94*, 128 (1915). Sulfat-S: STEVENS, Analyst, *40*, 275 (1915); DE JONG, Chem. Weekbl., *12*, 626 (1915); im Boden: BROWN u. KELLOGG, Journ. Ind. Eng. Chem., *7*, 686 (1915). — **12**) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *96*, 323 (1916). TRNKA, Vestn. slez. česk. prir. 1915, p. 272. — **13**) HAMBURGER, Biochem. Ztsch., *77*, 168 (1916). Ztsch. physiol. Chem., *100*, 221 (1917). Bestimm. als Benzidinsulfat: LIEBESNY, Biochem. Ztsch., *105*, 43 (1920). — **14**) E. SALKOWSKI, Ztsch. physiol. Chem., *83*, 143 (1913). LENHER u. TRUOG, Journ. Amer. Chem. Soc., *38*, 1050 (1916). HORVATH, Ztsch. analyt. Chem., *55*, 513 (1916).

Für die Auffindung von Spuren von Borsäure kommt außer der bekannten Curcuminprobe und der Flammenfärbung auch die Herstellung von Borsäure-Methylester in Betracht: BERTRAND und AGULHON (1).

Zum Nachweise von Spuren von Chlorwasserstoffsäure kann nachstehendes Verfahren von VILLIERS und FAYOLLE (2) dienen, bei welchem Gegenwart von Bromiden und Jodiden irrelevant ist. Die zu prüfende Flüssigkeit wird auf das Volumen von 10 ccm gebracht und in einem Kolben mit Schwefelsäure und $KMnO_4$ oxydiert. Die übergehenden Dämpfe leitet man in eine mit Essigsäure versetzte Anilinlösung ein, in der Cl in größerer Verdünnung eine violette oder blaue Färbung, bei Gegenwart größerer Mengen einen schwarzen Niederschlag von Oxydationsprodukten erzeugt. Ist Br und J nicht zugegen, so kann man noch weniger als 1 mg HCl auf diese Art nachweisen; bei Gegenwart von Br und J ist die Empfindlichkeit der Probe geringer. CNH darf nicht zugegen sein. Beim gewöhnlichen Veraschen findet immer Verlust durch Verflüchtigung von Chloriden statt. Zahlenangaben hierüber hat DAVIES (3) gemacht. Bei Zusatz von Na_2CO_3 (5% der Substanz) ist der Verlust selbst bei $MgCl_2$ vermieden. Für die Ausführung der bekannten Chlortitration nach VOLHARD sind die kritischen Bemerkungen von ROTHMUND und BURGSTALLER (4) wichtig. Hinsichtlich des Verfahrens der Chlorbestimmung in eiweißhaltigen Flüssigkeiten vgl. GAZZETTI (5). Die Methoden zum Nachweise freier HCl, welche für die Untersuchung des tierischen Magensaftes große Bedeutung haben (6), kommen zu botanisch-physiologischen Zwecken einstweilen nicht in Betracht.

Über den Nachweis von Bromid in Gegenwart von Jod haben VILLIERS und FAYOLLE (7) gleichfalls Versuche angestellt. Als Reagens auf freies Brom dient nach DENIGÈS (8) die farblose Mischung von Fuchsin und Natriumbisulfit; Cl erzeugt gleichfalls Rötung. POZZI-ESCOT (9) weist Brom in sehr kleinen Mengen mikrochemisch als Tribromanilinfällung nach.

Kleine Jodmengen weisen FENDLER und STÜBER (10) nach Verseifung und Verkohlung des Materials mittels Oxydation durch Nitrit oder

---

1) G. BERTRAND u. H. AGULHON, Bull. Soc. Chim. (4), *7*, 90 u. 125 (1910); Bull. Sci. Pharm., *21*, 65 (1914); zum Borsäurenachweis: G. FENDLER, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mitt., *11*, 137 (1906); L. WOLFRUM u. J. PINNOW, Ebenda, p. 144; V. CASTELLANA, Gazz. chim. ital., *36*, I, 106, 232 (1906); G. VELARDI, Ebenda, p. 230; W. H. LOW, Journ. Amer. Chem. Soc., *28*, 807 (1906); SPINDLER, Ztsch. Unt. Nahr. Gen.mitt., *10*, 478 (1905); L. ROBIN, Bull. Soc. Chim., *13*, 602 (1913); A. PARTHEIL u. J. A. ROSE, Ber. chem. Ges., *34*, 3611 (1901). HALPHEN, Ann. des Falsif., *8*, 1 (1915). — 2) A. VILLIERS u. FAYOLLE, Compt. rend., *118*, 1152, 1204 (1894). — 3) H. E. DAVIES, Chem. Zentr. (1901), I, 916. — 4) V. ROTHMUND u. A. BURGSTALLER, Ztsch. anorg. Chem., *63*, 330 (1909). — 5) C. GAZZETTI, Archiv. Fisiol., *11*, 81 (1913); auch ST. v. BOGDÁNDY, Ztsch. physiol. Chem., *84*, 11 (1912); Cl-Bestimmung in Reis: A. R. THOMPSON, Journ. Amer. Chem. Soc., *35*, 1628 (1913). Über Cl-Bestimmung ferner: DE JONG, Chem. Weekbl., *12*, 592 (1915); ROBERTSON, Journ. Chem. Soc., *107*, 902 (1915); MCLEAN u. VAN SLYKE, Journ. Biol. Chem., *21*, 361 (1915); Journ. Amer. Chem. Soc., *37*, 1128 (1915). — 6) Vgl. z. B. FR. SIMON, Berliner. klin. Woch.schr., *43*, 1131 (1906). — 7) VILLIERS u. FAYOLLE, Compt. rend., *118*, 1265 (1894). Bromidbestimmung: BOGDÁNDY, l. c. — 8) G. DENIGÈS u. L. CHELLE, Ebenda, *155*, 1010 (1912); J. GUARESCHI, Ztsch. analyt. Chem., *52*, 607 (1913). — 9) M. E. POZZI-ESCOT Ann. Chim. analyt. appl., *12*, 316 (1907). Zur Brombestimmung: ROBERTSON, l. c.; WINKLER, Ztsch. angew. Chem., *28*, 477 (1915); AUTENRIETH, Münch. med. Woch.schr., *65*, 33. — 10) G. FENDLER u. W. STÜBER, Ztsch. physiol. Chem., *89*, 123 (1914).

Bichromat und Ausschütteln mit CS_2 oder CCl_4 nach. Zur Jodbestimmung in organischen Substanzen vgl. BLUM und GRÜTZNER (**1**).

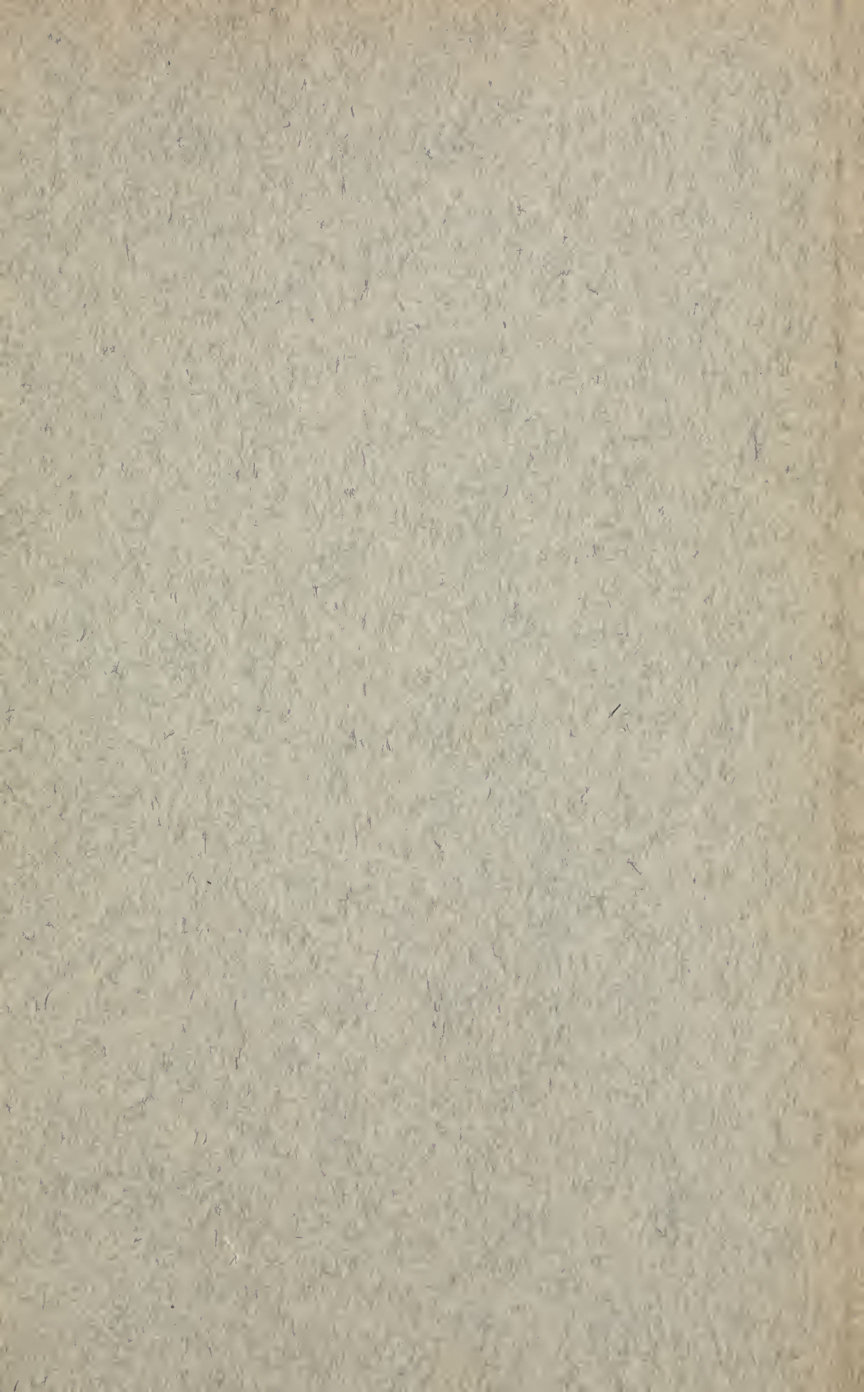
Hinsichtlich der Bestimmung von Fluor seien die Arbeiten von JODLBAUER (**2**) und von LEININGEN-WESTERBURG (**3**) hervorgehoben.

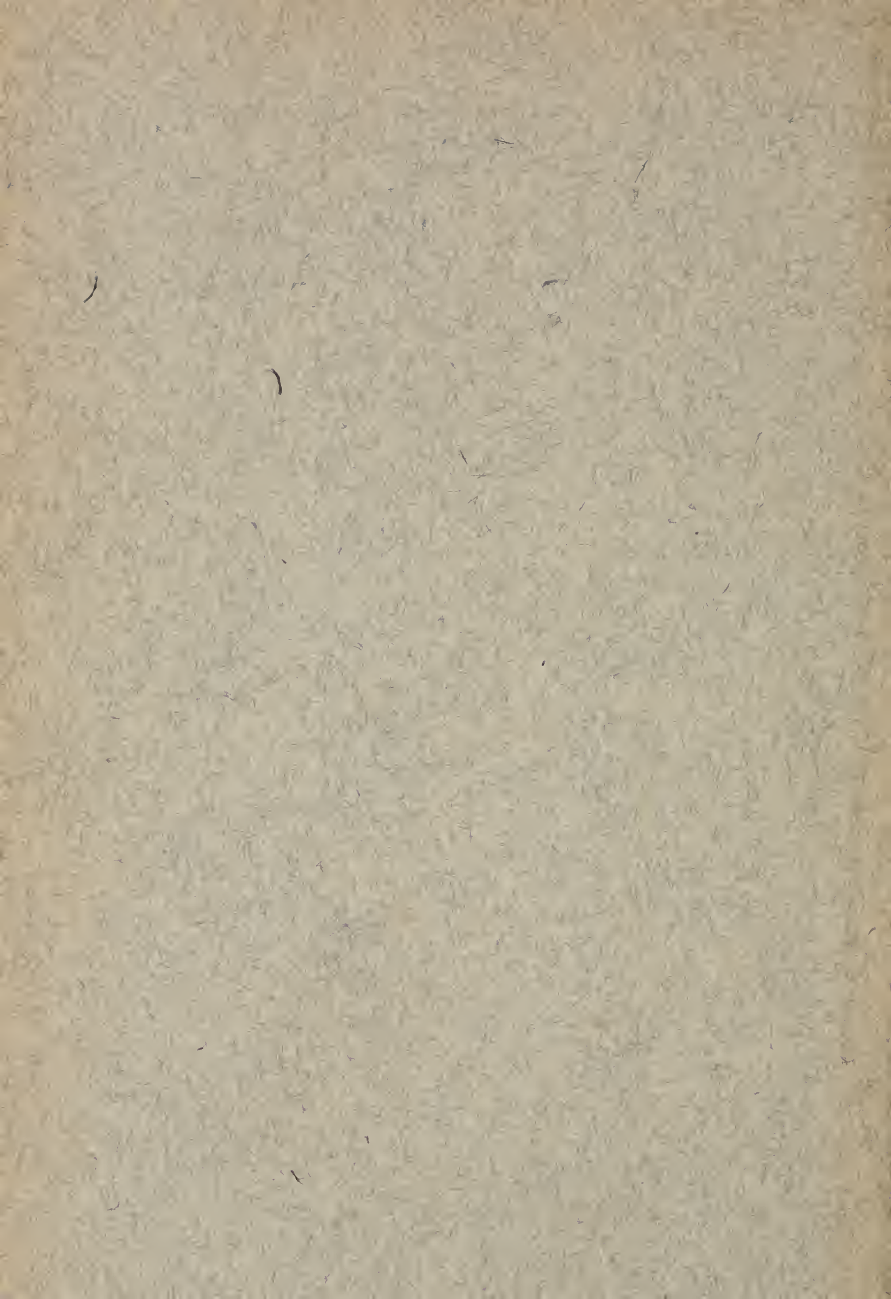
Auf die analytischen Methoden, welche bei der Bodenuntersuchung Anwendung finden, braucht hier wohl nicht näher eingegangen zu werden. Von Arbeiten auf diesem Gebiete seien diejenigen von FÖRSTER (**4**) und von CAMERON (**5**) als größere allgemeine Studien genannt.

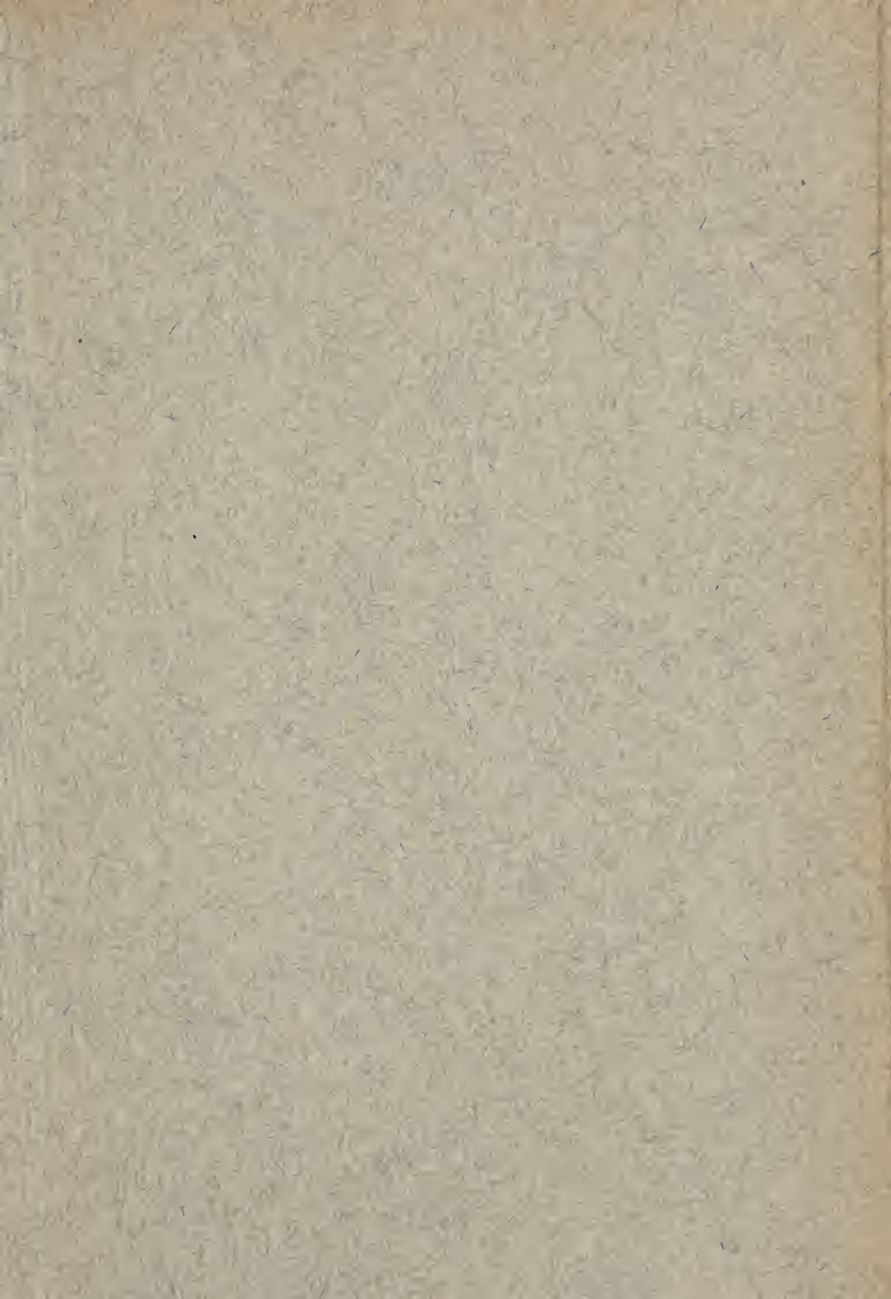
---

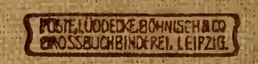
1) F. BLUM u. R. GRÜTZNER, Ztsch. physiol. Chem., *85*, 429 (1913). Bestimmung kleiner Jodmengen: KENDALL, Journ. Biol. Chem., *19*, 251 (1915). KRAUSS, Ebenda, *24*, 321; *32*, 151 (1915); RUPP u. LEHMANN, Arch. Pharm. *253*, 443 (1915); W. LENZ, Sitz.ber., preuß. Ak. Berlin 1916, p. 1028; FOUQUE, Bull. Soc. Chim. (4), *19*, 270 (1916); TARUGI, Gazz. chim. ital., *48*, I, 1 (1918). — **2**) JODLBAUER, Ztsch. Biol., *41*, 487 (1901). — **3**) W. GRAF ZU LEININGEN-WESTERBURG, Dissert. München (1904); Ztschr. Krystall., *42*, 664 (1906). — **4**) O. FÖRSTER, Chem.-Ztg., *28*, 36 (1904). — **5**) F. K. CAMERON u. F. J. BREAZEALE, Journ. Amer. Chem. Soc., *26*, 29 (1904).










POSTE, LÜDDECKE, BÖHNISCH & CO
GROSSBUCHBINDEREI LEIPZIG